

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Anatomía



TESIS DOCTORAL

Estudio morfológico de la membrana basilar en el gato

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Lucía Cabezudo García

Madrid, 2015

7P
103
588

Lucía Cabezudo García



x- 588 103 5

ESTUDIO MORFOLOGICO DE LA MEMBRANA BASILAR EN EL GATO

Departamento de Anatomía
Facultad de Medicina
Universidad Complutense de Madrid
1983



Colección Tesis Doctorales. N^o

88/83

© Lucia Cabezudo García
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1983
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-9857-1983

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

ESTUDIO MORFOLOGICO DE LA MEMBRANA BASILAR

EN EL GATO

TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR

DÑA. LUCIA M. CABEZUDO GARCIA

DIRECTORES: PROF.D. ROBERT S. KIMURA

PROF.D. LUIS GOMEZ OLIVEROS

1982

UNIVERSIDAD DE MADRID

Facultad de Medicina
Departamento de Anatomía, I Cátedra
Ciudad Universitaria (Madrid)

PROF. DR. L. GOMEZ OLIVEROS

DON LUIS GOMEZ OLIVEROS, CATEDRATICO DE ANATOMIA (Iª. CATEDRA) DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

CERTIFICA: Que la tesis realizada por Dª. LUCIA CABEZUDO GARCIA, sobre "Estudio morfológico de la membrana basilar en el gato" se inició bajo mi dirección y terminó su realización en el Laboratorio de Microscopía Electrónica del Departamento de Otorrinolaringología del Massachusetts Eye and Ear Infirmary de Boston (USA) siguiendo el curso trazado por el Prof. Robert S. Kimura, estando en el momento actual en condiciones de ser leída y juzgada.

Y para que conste, y a los efectos oportunos expide el presente certificado en Madrid a diecinueve de febrero de mil novecientos ochenta y dos.



Fde. L. Gómez Oliveros.

Las líneas de este trabajo fueron trazadas en el Departamento de Anatomía de la Universidad Complutense de Madrid (Director: Prof. Gomez Oliveros) a comienzos del año 1974. Su ejecución se efectuó bajo la dirección del Prof. Kimura en el Laboratorio de Microscopía Electrónica del Departamento de Otorrinolaringología del Massachusetts Eye and Ear Infirmary de Boston (Director: Prof. Schuknecht), durante los cursos académicos -- 1.974-75, 1.975-76, 1.976-77 y 1.977-78. El análisis matemático de los datos se ha completado con la ayuda del Dr. Antoli-Candela Cano.

La realización del trabajo experimental ha sido parcialmente sufragada merced a una Ayuda de Investigación concedida por la Universidad de - Harvard.

Parte de los resultados de esta tesis han sido presentados en el - Basic Research Forum de la American Academy of Ophtalmology and Otolaryngology (1977) en Dallas.

Mi sincera gratitud a los Profesores Kimura y Gomez Oliveros, -
Directores de esta Tesis Doctoral, por haberme acogido en su grupo de co-
laboradores, por la confianza depositada en mi investigación y por la lección
de entrega profesional y humana que de ellos he recibido.

Al Prof. Schuknecht y al Dr. Antolí-Candela Cano por su Incondi-
cional aporte científico y técnico a todo lo largo de la ejecución de este estu-
dio.

A mis padres por su constante sacrificio y estímulo y por haber si-
do mi mejor apoyo durante el desarrollo de este manuscrito.

A mi buena amiga Carol Ota por su inestimable colaboración en la
realización experimental de este trabajo.

Mi agradecimiento se extiende a la Dra. Nadal, Dra. Maties, Dr.
Gomez Pellico, Dr. Lopez Nombela y Dra. Rhode por su gran interés y va-
liosa ayuda.

Deseo hacer constar finalmente mi gratitud a M^a Teresa Fernán-
dez y Javier Slocker por su desinteresada colaboración.

A mis padres

- IV -

ABREVIATURAS

cc	Conducto coclear
mb	Membrana basilar
pp	Pars pectinata
pt	Pars tecta
spa	Espira apical
spb	Espira basal
spm	Espira media
vr	Ventana redonda

INDICE

INDICE

	<u>Página</u>
I. <u>HIPOTESIS</u>	12
II. <u>RECUERDO MORFOLOGICO</u>	
2.0. <u>Introducción</u>	16
2.1. <u>Recuerdo morfológico propiamente dicho o estructural de la membrana basilar</u>	16
2.1.1. Descripción general	17
2.1.2. Elementos estructurales de la membrana basilar	17
2.1.2.1. Elementos celulares	18
2.1.2.2. La substancia intercelular: substancia fundamental y porción filamento sa	20
2.1.2.3. Capilares. El vaso espiral	23
2.1.3. La membrana basal	24
2.1.4. Naturaleza tisular de la membrana basilar	24
2.2. <u>Recuerdo morfológico-funcional de la membrana basilar</u>	25
2.2.1. Anchura de la membrana basilar	25
2.2.2. Grosor de la membrana basilar	28
2.2.3. Longitud de la membrana basilar	29
III. <u>REVISION HISTORICA</u>	
3.0. <u>Introducción</u>	33
3.1. <u>Revisión morfológica propiamente dicha o estructural de la membrana basilar</u>	33
3.2. <u>Revisión morfológico-funcional de la membrana basilar</u>	47
3.3. <u>Revisión de la fisiología de la membrana basilar</u>	54

	<u>Página</u>
IV. <u>MATERIAL Y METODOS</u>	
4.0. <u>Introducción</u>	61
4.1. <u>Material</u>	62
4.2. <u>Método para estudio del temporal con Microscopía Opti- ca</u>	62
4.2.1. Fijación del temporal. Técnica de perfusión arterial	63
4.2.2. Obtención del temporal	64
4.2.3. Preparación del temporal	64
4.2.3.1. Decalcificación.....	65
4.2.3.2. Neutralización y Deshidratación....	65
4.2.3.3. Inclusión	66
4.2.3.4. Endurecimiento y obtención del blo- que	66
4.2.4. Corte del temporal y obtención de las seccio- nes.....	66
4.2.5. Tinción y Montaje de las secciones.....	67
4.2.6. Método de obtención y análisis de datos.....	68
4.2.6.1. Determinación de la longitud media. Obtención del cocleograma estándar.	68
4.2.6.2. Determinación de la anchura de la membrana basilar.....	70
4.3. <u>Método para estudio de la cóclea con Microscopía Elec- trónica de Transmisión</u>	71
4.3.1. Fijación de la cóclea. Técnica de perfusión pe- rilinfática.....	71
4.3.2. Obtención de la cóclea.....	72
4.3.3. Preparación de la cóclea	73
4.3.3.1. Lavado	73
4.3.3.2. Segunda fijación.....	73
4.3.3.3. Lavado y Deshidratación	73
4.3.3.4. Inclusión	74

	<u>Página</u>
4.3.4. Fragmentación de la cóclea y Obtención de las secciones	74
4.3.4.1. Obtención y localización de las piezas	74
4.3.4.2. Selección y montaje de las piezas ...	75
4.3.4.3. Sección de las piezas	76
4.3.5. Tinción de las secciones y Técnicas complementarias	78
4.3.6. Método de obtención y análisis de datos.....	79
4.3.6.1. Determinación de la anchura de la membrana basilar	79
4.3.6.2. Determinación del grosor de la membrana basilar	80
4.3.6.3. Determinación del número de células timpánicas	80
4.3.6.4. Estudio cuantitativo de los filamentos.	81
4.3.6.5. Estudio cualitativo de la membrana basilar	82
4.4. <u>Método para estudio de la cóclea con Microscopía de Contraste de Fase</u>	82
4.4.1. Fijación, Obtención y Preparación de la cóclea.	83
4.4.2. Fragmentación de la cóclea y montaje de las piezas.....	83
4.4.2.1. Fragmentación de la cóclea	83
4.4.2.2. Montaje de las piezas	84
4.4.3. Obtención de las secciones.....	84
4.4.4. Método de obtención y análisis de datos.....	85
4.4.4.1. Determinación del ángulo de las células ciliadas externas con el eje radial de la membrana basilar	85
4.4.4.2. Determinación de la anchura de la membrana basilar en las preparaciones de superficie	86
4.4.4.3. Determinación de la anchura de la membrana basilar en la zona de la ventana redonda	88

Página

V. RESULTADOS

5.0. <u>Introducción</u>	91
5.1. <u>Ultraestructura de la membrana basilar y de la lámina o membrana basal</u>	91
5.1.1. Elementos estructurales de la membrana basilar	92
5.1.1.1. Las células timpánicas	92
5.1.1.2. La substancia fundamental	99
5.1.1.3. La porción filamentosa	102
5.1.2. Lámina o membrana basal	112
5.2. <u>Anchura de la membrana basilar</u>	113
5.2.1. Determinaciones con Microscopía Óptica	113
5.2.2. Determinaciones con Microscopía Electrónica de Transmisión	122
5.2.3. Determinaciones con Microscopía de Contraste de Fase	131
5.2.4. Factores de corrección	141
5.2.5. Análisis global de los resultados	152
5.3. <u>Grosor de la membrana basilar</u>	159

VI. DISCUSION

6.0. <u>Introducción</u>	163
6.1. <u>Relación entre la morfología de la membrana basilar y su patrón vibratorio</u>	163
6.2. <u>Comparación morfométrica con la membrana basilar de otros mamíferos</u>	169
6.3. <u>Evolución de la membrana basilar con la edad</u>	174
6.4. <u>Permeabilidad de la membrana basilar</u>	175
6.5. <u>Importancia del vaso espiral</u>	179
6.6. <u>Otros aspectos estructurales de la membrana basilar</u> ..	181
6.6.1. Células timpánicas	181
6.6.2. Substancia fundamental	183

- X -

	<u>Página</u>
6. 6. 3. Porción filamentosa	184
VII. <u>CONCLUSIONES</u>	186
VIII. <u>BIBLIOGRAFIA</u>	193

X1

I. HIPOTESIS

I. HIPOTESIS

La membrana basilar (mb) es una estructura situada inmediatamente debajo del órgano de Corti y su importancia en la selectividad de las frecuencias cocleares ha sido ampliamente reconocida desde hace más de un siglo (85, 91, 165, 227, 20, 64, 65, 206, 37, 170, 220, 226). Estos dos factores, proximidad al órgano sensorial y participación en la audición, determinan el gran interés que despierta su estudio.

Todo estímulo sonoro provoca un movimiento vibratorio de la mb, cuyo máximo desplazamiento se localiza a distintos niveles de la cóclea en función de su frecuencia: las altas lo producen en la región basal mientras que las bajas lo sitúan en la apical (20). Ahora bien, el patrón vibratorio de la mb fundamentalmente está determinado por sus propias características morfológicas, ya que a través de ellas vendrá definida su rigidez (217, 205).

Estas observaciones fundamentan la Hipótesis de esta Tesis Doctoral: "La distinta localización del desplazamiento máximo de la membrana basilar tiene un substrato morfológico característico". Lo cual presupone la existencia de diferencias estructurales en la mb a lo largo del conducto coclear (cc).

No ofrece duda el hecho de que los elementos que componen la mb mediante su número, distribución y características íntimas, determinan en gran parte el grado de rigidez de aquella, al definir las propiedades de la masa vibrante. Así pues, está claro que estos parámetros morfológicos influyen decisivamente en la dinámica de la mb y si hubiese variaciones en los mismos, éstas repercutirían en su patrón vibratorio; por lo tanto, es fundamental establecer las posibles diferencias cualitativas y cuantitativas que presenten a lo largo del cc. De todos ellos, solo la anchura de la mb ha

sido estudiada con cierta extensión (86, 76, 215, 151, 61, 154, 155, 156, - 157, 89, 92, 88, 158, 159, 160, 7, 53, 161, 212, 87, 162, 164, 30, 191, - 194) observando que esta estructura suele experimentar un ensanchamiento variable y progresivo desde la base, donde se encuentra la zona más estrecha, hasta la región apical. En relación con su grosor, solo se han realizado determinaciones del espesor de la substancia intercelular (61, 96, 154, 155, 156, 157, 158, 160, 28, 53, 161, 212, 87, 163, 164), demostrando que se producen cambios notables entre las distintas espiras de la cóclea. Todos estos datos implican la presencia de variaciones cuantitativas, por lo menos en alguno de los elementos constituyentes de la mb a lo largo del cc; sin embargo sorprende comprobar que no existe ningún análisis metódico y completo de los mismos en función de su localización.

Ante esta información se hizo evidente la necesidad de efectuar un estudio sistemático, cualitativo y cuantitativo, de los distintos parámetros morfológicos de la mb en sucesivos niveles de la cóclea y así, poder describir su variación tanto en el plano radial como en el longitudinal del cc. Para su desarrollo se proyectó el siguiente plan de trabajo:

A) Estudio sistemático de los elementos que forman la mb, entre sus límites externo e interno. Comprende:

- 1) Descripción ultraestructural.
- 2) Análisis cualitativo diferencial.
- 3) Determinación cuantitativa de distribución.

B) Medición de la anchura de la mb.

C) Valoración cuantitativa del grosor de la mb en varios puntos, según su plano radial.

El gato fué elegido como animal de experimentación ya que gran parte de los datos sobre fisiología auditiva proceden del mismo y sin embargo las características estructurales de su mb son prácticamente desconocidas. El disponer de esta información debe facilitar la posibilidad de establecer una correlación morfológico-funcional y a su vez permitiría efectuar un examen comparativo con aquellos parámetros conocidos de la mb de otras especies animales pertenecientes a la clase de los mamíferos.

Los cambios evolutivos que experimentan los distintos elementos estructurales constituyen una variable importante en todo estudio morfológico. Por supuesto, la mb no escapa a este proceso de envejecimiento y a nivel de sus células ya se han descrito diferencias cualitativas y cuantitativas en relación con la edad del animal (35, 97). Con el fin de reconocer las modificaciones secundarias a dicho factor, en este estudio se han utilizado 16 gatos adultos y 3 jóvenes. Debido a la longevidad de esta especie, no fue posible obtener animales que pudieran ser incluidos dentro del cuadro involutivo senil.

15

II. RECUERDO MORFOLOGICO

II. RECUERDO MORFOLOGICO

2.0. Introducción

El estudio morfológico de la mb, estructura que juega un importante papel en la fisiología auditiva, no se puede limitar a la simple descripción de las características de los elementos que la componen, sino que también - debe incluir un análisis cuantitativo de los mismos puesto que su variación a lo largo de la cóclea tiene una evidente repercusión funcional. Así pues, en el recuerdo morfológico de la mb habrá que hacer distinción entre:

- 2.1. El morfológico propiamente dicho o estructural con la descripción microscópica global de la mb y de cada uno de los elementos que la constituyen. Corresponde al conocimiento actual de su morfología.
- 2.2. El morfológico-funcional que agrupa los datos conocidos sobre la anchura, grosor y longitud de la mb. Solo se consideran estos parámetros por ser los únicos que se han valorado cuantitativamente hasta el momento presente.

2.1. Recuerdo morfológico propiamente dicho o estructural de la membrana basilar

Antes de comenzar el recuerdo morfológico de la mb debe tenerse en cuenta que todos los estudios estructurales previos a éste y, por lo tanto, la fuente de donde procede esta información, han aportado un análisis cualitativo de la misma solo a nivel de la espira media (spm), sin precisar tampoco su localización en milímetros de distancia desde la base. La razón de esta postura fué considerar que la descripción general de la mb era similar a todo lo largo del cc, excepto en sus porciones más extremas, apical y basal, las cuales no han llegado a ser analizadas, posiblemente por las difi-

cultades técnicas que implica su estudio.

2.1.1. Descripción general

La mb es una estructura de origen mesodérmico que se sitúa inmediatamente subyacente a las células de soporte del órgano de Corti, previa interposición de una membrana basal. Radialmente se extiende desde la cresta basilar del ligamento espiral hasta el labio timpánico del limbo espiral y, conjuntamente con este último, constituye la pared timpánica del cc (Fig. 1).

Iurato (97, 98, 100) considera que la mb, el ligamento espiral y el limbo espiral son porciones de una misma entidad morfológico-funcional - que denomina estructura de soporte del órgano de Corti. A pesar de que el ligamento y el limbo espiral tienen una cierta participación en la estabilidad y dinámica vibratoria del órgano sensorial, a través del anclaje que ofrecen a la mb; el hecho demostrado de que la ultraestructura y organización de sus elementos difieren ampliamente entre sí (24, 201), así como las distintas propiedades que respectivamente se les atribuyen (20, 95, 201) no parecen apoyar sin embargo este planteamiento.

El examen de las secciones radiales con microscopía óptica muestra dos zonas diferentes a lo ancho de la mb. Una estrecha e interna localizada hacia el limbo espiral, que se denomina "zona arcuata o pars tecta" (pt) y otra externa, más ancha, dirigida hacia el ligamento espiral que se llama "zona o pars pectinata" (pp). El límite entre estas dos porciones se encuentra a nivel del pilar externo.

2.1.2. Elementos estructurales de la membrana basilar

La mb está formada por células, substancia intercelular y capila-

res. La substancia intercelular se compone a su vez en una porción filamentososa y de la substancia fundamental.

2.1.2.1. Elementos celulares

Las células de la mb son de origen mesodérmico y se agrupan a nivel de su cara timpánica. Esta localización condujo a Claudius (33) a denominarlas células de la capa de recubrimiento timpánico, ya que su cara superior está en relación directa con la substancia fundamental, mientras la inferior está bañada por la perilinfa. También se las conoce como células del borde timpánico, células timpánicas, células mesoteliales y células de la mb. Tienen una forma fusiforme y se disponen longitudinalmente, adoptando una posición paralela al eje del cc. Su grosor varía entre $0,5\mu\text{m}$ - $1,5\mu\text{m}$ y su anchura alcanza unas $30\mu\text{m}$, aproximadamente.

Iurato (97, 98) describió en la rata adulta la presencia de una capa única de células, cuyos bordes contactaban entre sí, formando un estrato continuo y de aspecto compacto. También observó que en la rata joven, esta capa es más gruesa y contiene un mayor número de células, con organelas citoplásmicas muy desarrolladas, mientras que éstas son muy escasas en la rata adulta. Estos hechos los ha interpretado como indicadores de un aumento en la síntesis proteica, sugiriendo que estas células del animal joven toman parte activa en la formación y depósito de la substancia intercelular.

Angelborg y Engström (6) estudiaron estas células timpánicas en el cobaya, con microscopía electrónica de transmisión y de barrido. Es el único estudio que aporta una cierta información acerca de la distribución de alguno de los elementos de la mb, en este caso de las células, a distintos niveles de la cóclea, sobre todo basal y apical; sin embargo, no indican el micrómetro de la zona analizada ni tampoco obtienen datos cuantitativos. Su

forma la comparan con la de las ganglionares, pues al igual que éstas poseen un cuerpo fusiforme con dos prolongaciones, una en cada extremo, delgadas y muy largas. El tamaño del cuerpo celular es de 3 a 6 μm siendo su superficie bastante lisa, aunque con cierta frecuencia se visualiza la presencia de un kínocilio. Los elementos citoplásmicos son muy escasos alrededor del núcleo localizándose fundamentalmente en las prolongaciones.

Estos autores no observaron diferencias en la estructura celular a lo largo del cc, sin embargo comprobaron que su distribución se modificaba notablemente a través del mismo. En la espira basal (spb), generalmente, solo existía una capa de núcleos y las células presentaban una orientación estrictamente longitudinal, encontrándose muy próximas entre sí. Su número por unidad de superficie, así como el área ocupada por ellas era mayor en la zona basal que en la apical. A nivel de la tercera y cuarta espira, sobre todo en esta última, la distribución celular era más irregular presentando, ocasionalmente, una orientación radial. En la porción apical aparecían múltiples estratos de cuerpos celulares con abundantes espacios entre ellos, bañados por perilinfa. En todas las espiras, el área ocupada por las células timpánicas era siempre menor a nivel de la pt y mayor en la pp, para disminuir de nuevo en las proximidades del ligamento espiral.

No evidenciaron diferencias cualitativas o cuantitativas en las células timpánicas que se pudieran relacionar con la edad de los cobayas examinados. Este hallazgo contrasta notablemente con los resultados obtenidos por Cowell y Rogers (35) en el cobaya senil, donde observaron una marcada disminución del número de células timpánicas estableciendo que existía una correspondencia directa entre su pérdida y la edad del animal. El buscar una explicación a esta discrepancia plantea, teóricamente, dos posibilidades: la primera se basa en el método de selección de los cobayas, pues mientras Cowell y Rogers especificaron su edad, Angelborg y Engström solo conocían el peso de los mismos. Este último hecho conduce a una falta de pre-

cisión cuando se trata de determinar si un animal es muy joven ó lo que es más difícil, claramente adulto y por lo tanto, se podría pensar que los especímenes estudiados se encontraban englobados dentro de un mismo período de maduración o muy próximos entre sí. La segunda, menos probable que la anterior, apunta hacia la posibilidad de que en el cobaya no se produzcan modificaciones de las células timpánicas durante la mayor parte de su vida y éstas solo aparezcan formando parte del proceso degenerativo de la involución senil, que se haría evidente de una forma brusca hacia el final de la vida del animal. Desafortunadamente, aún no existen datos suficientes para demostrar o descartar una de ellas.

Comparando la información obtenida por Iurato en la rata con la de Angelborg y Engström en el cobaya, se observa la presencia de diferencias marcadas en la distribución de las células timpánicas a lo largo del cc. Este hecho no es sorprendente, ya que es ampliamente conocida la existencia de variaciones en la morfología de una misma estructura en las distintas especies animales, así como la imposibilidad de extrapolar datos absolutos de unos a otros. Sin embargo, se debe recordar que la descripción de Iurato se refiere a la spm sin especificar su localización. Si el área analizada estuviera situada en su porción baja, es decir la zona de transición con la spb, estas diferencias entre ambas especies podrían quedar reducidas al mínimo.

En el punto de contacto entre dos células timpánicas a veces aparece una diferenciación específica de las membranas plasmáticas. Para Angelborg (5), en el cobaya, esta unión celular correspondería a una zónula adherente mientras Kimura (112), en el humano, considera que se trata de una mácula ocluyente.

2.1.2.2. La substancia intercelular: substancia fundamental y porción filamentosa

La substancia intercelular constituye el elemento de soporte donde descansa el órgano de Corti y entre ambos existe una lámina ó membrana basal. A nivel de la rampa timpánica la substancia intercelular establece un contacto directo, sin interposición membranosa alguna, con los elementos celulares. Se compone de la substancia fundamental y de la porción filamentosa.

LA SUBSTANCIA FUNDAMENTAL es en general transparente, excepto en algunas zonas donde presenta un aspecto algodonoso (97, 98).

LA PORCION FILAMENTOSA está formada por filamentos, cuya distribución es diferente a nivel de la pt y de la pp. En la pt, los filamentos se disponen radialmente y de forma compacta, sin formar haces. Se sitúan uno al lado del otro, rodeados por escasa substancia fundamental y forman un estrato único que se encuentra sobre una capa de substancia fundamental con aspecto algodonoso.

En la pp los filamentos se agrupan en haces, los cuales no están envueltos por una membrana limitante. Iurato (97, 98) distingue tres grupos de haces según su tamaño: pequeños, medianos y grandes. Los pequeños con un diámetro de 0,05 - 0,1 μ m, se constituyen de varias decenas, los medianos tienen un diámetro de 0,1 - 0,5 μ m con varios cientos y los grandes cuyo diámetro oscila entre 0,5 - 1,5 μ m poseen varios miles. Estos haces se dirigen radialmente, disponiéndose en dos estratos: uno superior y otro inferior. El estrato superior se forma con haces muy próximos, de mediano tamaño, que establecen numerosas conexiones entre sí, originando de esta forma una capa casi continua. Sus filamentos alcanzan a veces la cara inferior de la membrana basal, pero con frecuencia se interpone la substancia fundamental entre ambos. El estrato inferior se compone de haces grandes, con forma cilíndrica y regular, claramente separados por abundante substancia fundamental algodonosa. Engström (47) ha observado la presencia de finas anastomo-

sis entre filamentos, fibrillas para dicho autor, que pueden incluir a un solo par ó a un grupo de ellos.

El espacio existente entre el estrato superior y el inferior está ocupado por substancia fundamental de aspecto algodonoso, la cual puede verse cruzada, con cierta frecuencia, por haces de pequeño y mediano tamaño. Debajo del estrato inferior hay una gruesa capa de substancia fundamental algodonosa, que establece una relación directa con las células timpánicas.

En la rata cada haz contiene, aproximadamente, unos 2.500 filamentos/ μm^2 (97, 98) y la distancia media entre ellos oscila de 180Å a 250Å (100). El diámetro de cada filamento en el cobaya varía entre 300Å para Engström (47) y 50Å para Spoendlin (198), en la rata entre $85-105\text{Å}$ (97, 98) y en el hombre entre $180-250\text{Å}$ (112).

En las secciones radiales de la mb, donde el plano de corte sigue la dirección de los filamentos, éstos presentan un perfil irregular debido a la existencia de pequeños gránulos que sobresalen en su superficie (97). En las secciones longitudinales o perpendiculares a su eje mayor muestran un contorno desigual con unas zonas densas separadas por otras más claras. Iurato (97, 98) a veces distingue en los filamentos de la rata, la presencia de seis áreas opacas dispuestas alrededor de otra central, cuyos diámetros son de unos 30Å , aproximadamente. Este hallazgo le sugiere la posibilidad de que los filamentos de la mb posean una organización hexagonal, agrupando seis cadenas de moléculas alrededor de una séptima central y por lo tanto, similar a la observada por Pauling y Corey (150) en la estructura molecular de la queratina. Se debe resaltar que Iurato ha sido el único en describir la presencia de siete subfibrillas en los filamentos de la mb, mientras Kimura (112) en el cobaya solamente distingue cuatro.

Mediante métodos químicos y difractográficos, Iurato (97, 98) tra

tó de determinar la naturaleza de estos filamentos en la rata. Aunque los resultados obtenidos no fueron concluyentes, han permitido comprobar que su naturaleza era proteíca y que la proteína encontrada no tenía ninguna relación con las existentes en el colágeno y en el material elástico. Por otra parte, estos filamentos presentaban una cierta similitud con los de la membrana tectoria, los cuales parecen pertenecer al grupo proteico k e m f.

2.1.2.3. Capilares. El vaso espiral

La presencia de un vaso sanguíneo discurrendo longitudinalmente por debajo del túnel de Corti se conoce desde 1884 en que Retzius (168) lo describió por primera vez en el embrión de conejo y le denominó vaso espiral. Se trata de un capilar procedente de la red vascular de la lámina espiral (193), que se sitúa sobre la superficie timpánica de la pt. En función de su localización, Axelsson (10) prefiere llamarlo vaso de la mb. Al ser el único vaso sanguíneo que alcanza el área del órgano de Corti, se ha sugerido la posibilidad de que juegue un papel primordial en la nutrición de los elementos sensoriales (122, 110).

La ultraestructura de este pequeño capilar, cuyo diámetro medio es de 4,9 μ m, aproximadamente, ha sido descrita por Kimura y Ota (113), en el cobaya, observando que su pared no muestra ninguna característica específica. Las células endoteliales no son fenestradas, en su interior, a veces, presentan filamentos agrupados en haces y están completamente rodeadas por una membrana basal. Por fuera se encuentran los pericitos, con numerosas y abundantes prolongaciones. Estas células adventiciales tienen una fina membrana ó lámina basal, que desaparece, con frecuencia, en la zona celular más alejada de la luz del capilar.

El vaso espiral se rodea, generalmente, con una capa de sustancia fundamental finamente granular, aunque por su aspecto parece estar for-

mada por finos filamentos. Externamente a este estrato y envolviendolo de una forma más ó menos completa, se localizan las células timpánicas, las cuales aparentemente constituyen un sistema de canales perivascu-
lares adquieren la apariencia de pequeños conductos que se abren en los tejidos adyacentes. Ocasionalmente, las células timpánicas rodean la pared vascular sin interposición de la capa de substancia fundamental.

Terayama y cols. (204) han descrito la presencia de fibras nerviosas en el área del vaso espiral, sin embargo Kimura y Ota (113) no consiguieron visualizarlas en el cobaya.

2.1.3. La membrana basal

La membrana basal, descubierta por Engström en 1955 (47), es una estructura homogénea, semiopaca y continua, con un grosor de 200 \AA , que se interpone entre la substancia intercelular de la mb y las células de soporte del órgano de Cortí. Entre la membrana plasmática de estos elementos celulares y la membrana basal existe un espacio de 180 \AA en la rata - (97).

2.1.4. Naturaleza tisular de la membrana basilar

El origen mesodérmico de la mb ha determinado su inclusión en el grupo de los tejidos conjuntivos. Sin embargo, es evidente que su morfología no encaja, totalmente, dentro de la descripción general de aquellos. Así, al analizar la estructura y naturaleza de sus filamentos se observan claras diferencias con las fibras colágenas, elásticas o de reticulina (45, 84, 120, 149, 97, 98). Por otra parte, aunque las células timpánicas parecen poseer ciertas funciones que las semejan a los fibroblastos (6), su distribución y relación con la substancia fundamental, las aproximan más a las células epi-

teliales.

Así pues, la mb está formada por un tejido que posee una función mecánica y sus peculiares características morfológicas no permiten incluirlo dentro de ninguna de las categorías conocidas del tejido conjuntivo, ni tampoco en las del tejido epitelial.

2.2. Recuerdo morfológico-funcional de la membrana basilar

Bajo este epígrafe se agrupan los datos cuantitativos, disponibles en la literatura, que reflejan los cambios experimentados por los distintos parámetros morfológicos de la mb a lo largo del cc. La importancia de estas variaciones estructurales radica en la influencia que probablemente ejercen sobre el patrón dinámico de la misma, al modificar su grado de rigidez intrínseca.

Es curioso comprobar, que mientras la anchura de la mb ha sido estudiada con cierta extensión, en cambio, no existe ningún trabajo que analice sistemáticamente la distribución de sus elementos constituyentes. Así pues, al no poseer datos cuantitativos suficientes en relación con los otros parámetros de la mb, su recuerdo morfológico-funcional estará limitado a:

2.2.1. La anchura de la membrana basilar.

2.2.2. El grosor de la membrana basilar.

2.2.3. La longitud de la membrana basilar.

2.2.1. Anchura de la membrana basilar

Desde las primeras mediciones de la anchura de la mb realizadas por Hensen en 1863 (86), ya se establece que esta estructura es más estrecha en la zona basal y más ancha en la apical. Estos datos sugirieron (168,

225, 209, 84) que la mb experimentaba un ensanchamiento uniformemente progresivo desde la base hasta su extremo apical, lo cual implicaría que el factor de incremento permanecía constante a todo lo largo del cc. Esta hipóte-sis, mantenida durante más de 50 años, se apoyaba en el hecho de que la anchura de la mb presentaba siempre, e independientemente de la especie ani-mal estudiada, un valor máximo en la región apical, mínimo en la basal, e intermedio entre ambas. La errónea interpretación de estos datos se produjo al no poder precisar a qué nivel de la cóclea se realizaban estas mediciones, ya que su conocimiento hubiera permitido hallar el grado de variación de la anchura de la mb, en función de la longitud coclear.

El método de reconstrucción coclear descrito por Guild (75) per-mitió establecer una relación directa entre cualquier dato y la posición, a lo largo de la cóclea, de la zona donde fue determinado. De esta forma, al poder representar unos valores en función de su localización coclear, Guild (76) obtuvo en el cobaya, las primeras curvas de la anchura de la mb. Las -mediciones se realizaron en secciones horizontales centro-modiolares, es decir, en las que el plano de corte corresponde al eje del modíolo. El límite externo de la mb se fijó a nivel de la cresta basilar del ligamento espiral y el -interno en el borde de la lámina espiral ósea, aunque a veces, utilizó en su lugar la habenula perforata. Al analizar estas curvas, representación gráfi-ca de la anchura de la mb, observó que la razón de su incremento/mm de -longitud variaba ampliamente a lo largo del cc. La máxima anchura, 209 μ m, estaba localizada casi una espira antes del extremo apical, decreciendo después rápidamente. La relación que existe entre sus valores máximo y el mí-nimo, 62 μ m, representa un factor de unas 3,35 veces. También, advirtió la presencia de grandes variaciones entre los distintos especímenes, no expli-cables en base a la edad de los animales. Guild concluyó, que como la anchu-ra de la mb solo era uno de los elementos que influyen en su respuesta mecá-nica, probablemente las diferencias individuales, eran compensadas con modi

ficaciones de los otros parámetros e indicó la necesidad de realizar un estudio morfológico más profundo de la misma.

Wever (215) efectuó mediciones de la anchura de la mb en especímenes humanos, obteniendo resultados similares a los anteriormente expuestos. Aunque en su estudio utilizó secciones horizontales y verticales de orientación modiolar, las determinaciones se efectuaron exclusivamente en las posiciones radiales, esto es, en aquellas secciones cuyo plano de corte pasaba a través del centro de curvatura de cada media espira. En ellas, la mb está cortada según su plano radial, mientras que las restantes secciones corresponden a un plano oblicuo de la misma, cuya medición no representa su verdadera anchura. Los límites se fijaron a nivel de la cresta basilar del ligamento espiral, el externo y de su expansión en el labio timpánico del limbo espiral, el interno. Como resultado de estas determinaciones de la anchura de la mb humana, Wever obtuvo un valor mínimo medio de $80\mu\text{m}$, a unos 0,24 mm de la base y un máximo de $498\mu\text{m}$, a una espira y media del extremo apical, aproximadamente. La relación que existe entre ambos valores representa un factor de 6,25 veces. Estas curvas mostraban grandes variaciones individuales sobre todo en la región apical, sin encontrar un factor de edad, sexo o raza, que pudiera explicarlas. Por ello, Wever concluyó que cualquier teoría auditiva donde la anchura de la mb represente un elemento importante para el análisis de las frecuencias cocleares, debe permitir un amplio margen de desviaciones normales en la región apical.

Posteriormente se han realizado mediciones de la anchura de la mb en diversas especies animales, aunque en el presente estudio solo se van a considerar las efectuadas en mamíferos (151, 61, 154, 156, 157, 89, 92, 88, 158, 159, 160, 7, 53, 161, 212, 87, 162, 164, 30, 191). Sus resultados son muy similares a los descritos previamente y muestran un ensanchamiento más o menos uniforme de la mb desde la base hasta el ápice de la cóclea. La progresión de su incremento y los valores absolutos obtenidos poseen caracte-

rísticas específicas en cada especie. La excepción a este patrón general lo constituyen ciertas familias de murciélagos como los Rhinolophos (155, 28), cuya mb presenta un estrechamiento variablemente progresivo desde la región basal, 100 μ m, hasta la parte alta de la spm, donde se localiza su mínima anchura, 80 μ m y después se ensancha, alcanzando su máximo, 120 μ m, en la región apical.

2.2.2. Grosor de la membrana basilar

En general, se ha prestado muy poca atención al grosor de la mb como factor morfológico de posible implicación funcional. En 1952, Fernandez (61) aportó la primera información cuantitativa sobre el espesor de la substancia intercelular de la mb, en el cobaya. Las mediciones se efectuaron con un objetivo ocular milimetrado en secciones horizontales centro-modiolares sin precisar la localización radial de las mismas. Los resultados obtenidos sitúan su máximo grosor, 7,4 μ m, en el comienzo de la spb y el mínimo, 1,3 μ m, en el extremo apical de la cóclea.

Pocos años después, Iurato (96) realizó determinaciones similares en la rata utilizando microscopía de contraste de fase y electrónica de transmisión. En este estudio, al igual que el anterior, no se precisa la localización radial ni longitudinal de las áreas analizadas. Sus observaciones demostraron que la substancia intercelular también variaba cuantitativamente a lo ancho de la mb: era menor en la pt y en la región cercana a la cresta basilar del ligamento espiral y mayor en la pp. A nivel de la spb existía, además, otro engrosamiento en las inmediaciones del pilar externo que desaparecía antes de alcanzar la spm. Advirtió que la edad influye de forma marcada en su espesor, siendo apreciablemente mayor en el animal adulto que en el joven. El máximo grosor de la pp se obtuvo en la spm y el de la pt en la spb. En cambio, el mínimo siempre se localizó en el extremo apical de la cóclea para ambas porciones de la mb.

Resultados similares a los descritos: distribución no homogénea de la substancia intercelular en el plano radial de la mb y disminución notable de su espesor a nivel del ápice coclear en relación con las otras espiras, han sido también reportados en quirópteros (155, 156, 157, 158, 160, 28, 87, 163, 164) y roedores (154, 161, 53, 212).

Así pues, es evidente que el grosor de la substancia intercelular presenta amplias variaciones tanto en el plano radial como en el longitudinal de la mb en los mamíferos. Todos estos datos apoyan la existencia de diferencias estructurales sistemáticas en la mb que deben ser características para cada uno de los distintos niveles de la cóclea. Por otro lado, se desconoce el espesor total de la mb ya que ninguna de las anteriores mediciones incluye el área de las células timpánicas.

2.2.3. Longitud de la membrana basilar

Aunque Retzius (168) en 1884 ya apuntó que la longitud del cc humano era de 33,5 mm, su conocimiento no se ha generalizado hasta 1921 en que Guild (75) describió un método para "la reconstrucción gráfica del órgano de Corti". Se basó en el supuesto de que cada media espira era un semicírculo, cuyo punto de unión era la tangente al plano de las cabezas de los pilares externos e internos. Mediante el examen microscópico de secciones horizontales seriadas se obtuvieron dichos puntos en las diferentes espiras de la cóclea y se unieron entre sí con semicírculos, cuyo centro se localizaba sobre un eje común. La porción más basal del cc denominada gancho, al tener una orientación espacial distinta al resto de las estructuras, requirió mediciones sucesivas en todas las secciones de esta zona. El resultado final fue una línea curva semejante a una espiral cuya medida correspondía a la longitud del órgano de Corti y por lo tanto de la mb. A pesar de que este método introduce algunos factores de error como consecuencia de trasladar a un plano una estructura tridimensional, posee sin embargo un indudable va-

lor ya que permite localizar espacialmente cualquier elemento morfológico en el interior de la cóclea. Por lo tanto, siempre deben ser expresados en función de la longitud, indicando su distancia a la ventana redonda (vr) o al extremo apical de la cóclea.

Así pues, a partir de este momento ya no existe ninguna barrera que impida determinar la longitud de la mb. Este hecho desencadenó la aparición de numerosos estudios sobre dicho parámetro, observando que presentaba amplias variaciones individuales y notables diferencias según la especie. A continuación se comentarán brevemente los trabajos más significativos por orden cronológico:

Hardy (80) reconstruyó 68 cócleas humanas, encontrando que la longitud media de la mb era 31,5 mm, con un mínimo de 25,3 mm y un máximo de 35,5 mm.

Keen (106), desconociendo la existencia de este método de Guild y ante la necesidad de localizar las estructuras cocleares en el espacio, describió un sistema de reconstrucción del órgano de Corti. Consideró que cada espira era un círculo, cuyo diámetro estaba comprendido entre el límite externo de la mb de un lado y el correspondiente al lado opuesto en la misma espira. Por lo tanto, estas determinaciones solo se podían realizar en secciones centro-modiolares. En la gráfica resultante, la cóclea aparecía representada por varios círculos concéntricos cuyo número variaba en función de las espiras del cc. De esta forma, obtuvo una longitud de la mb de 32 mm en el hombre, de 21 mm en el cobaya, de 35 mm en la oveja, de 20 mm en el gato, de 24 mm en el perro y de 33 mm en la ternera.

La longitud de la mb del cobaya fue medida por Fernandez (61) en 12 cócleas, con el método de Guild y con un ocular milimetrado. La combinación de ambos métodos aportó una media de $18,8 \pm 0,5$ mm, que se distri-

bufo en 8,5 mm, 4,8 mm, 3,4 mm y 2,1 mm para cada una de las espiras.

Schuknecht (176), después de estudiar 26 cócleas de gato, estableció que la longitud media de su mb era de 22 mm, oscilando entre 20 y 23,1 mm. Posteriormente Igarashi y cols. (92) corroboraron que la longitud media de la mb del gato era 22 mm, pero en cambio solo alcanzaba 20 mm en el mono y 8 mm en la rata.

La longitud de la mb de los murciélagos también muestra las mismas características de variabilidad que el resto de los mamíferos. Los valores medios obtenidos son 16 mm en *Rhinolophos ferrumequinum* (28), 13,2 mm en *Pteronotus p. parnellii* (87), 6,9 mm en *Myotis lucifugus* (163, 164) y 6,3 mm en *Myotis myotis* (30, 191).

Ante estos resultados, es ostensible la presencia de amplias variaciones individuales en la longitud de la mb, sin que se haya evidenciado ningún factor que las justifique totalmente. Por otra parte, tampoco hay duda de que además cambia con la especie. Keen (106) defiende que en los mamíferos, estas diferencias son insignificantes si se comparan con las existentes entre otros parámetros del organismo. Su conclusión es que las cócleas, en conjunto, se parecen extraordinariamente entre sí en las distintas especies y no hay relación alguna con el tamaño del animal, de la cabeza o con el peso del cerebro.

III. REVISION HISTORICA

III. REVISION HISTORICA

3.0. Introducción

Toda la información disponible sobre la morfología de la mb se ha incluido en dos apartados:

- 3.1. Revisión morfológica propiamente dicha o estructural. Cubre todos los estudios y datos cualitativos de la mb, como estructura global y de cada uno de sus elementos constituyentes.
- 3.2. Revisión morfológico-funcional. Comprende los estudios y datos - cuantitativos relacionados con los distintos parámetros morfológicos de la mb.

Finalmente en un tercer apartado (3.3.) se exponen de forma somera las teorías auditivas más significativas, analizando el papel que desempeña la mb en cada una de ellas.

3.1. Revisión morfológica propiamente dicha o estructural de la membrana basilar

Los primeros datos sobre la mb parecen corresponder a 1842, en que Hannover (79) la describió como una membrana de composición fibrilar, que se extendía desde el modíolo a la pared externa de la cóclea. A partir - de esta fecha comienza un período, que podría ser considerado como la época de oro de la morfología coclear y de la mb, y que se prolonga hasta finales del siglo XIX. Durante el mismo se realizaron numerosos estudios cuya repercusión posterior ha sido muy notable.

Con Corti, en 1851 (35), se obtuvo la primera descripción del re-

ceptor auditivo, el cual ha recibido su nombre y se le conoce como órgano de Corti. Su estudio consistió en un análisis morfológico de la mayor parte de las estructuras del cc en diferentes especies animales. Definió a la mb como una lámina espiral membranosa de composición fibrilar, situada debajo del órgano sensorial y en ella distinguió dos porciones, una interna y otra externa. Creyó que tenía naturaleza protéica, similar a la de la membrana tectoria y a la del ligamento espiral.

El primero en utilizar el nombre de membrana basilaris o membrana basilar, fué Claudius en 1856 (33). Al igual que Corti, también distinguió en ella dos porciones, considerando que eran estructuralmente diferentes entre sí. La interna más estrecha, estaba ocupada por un escaso número de fibrillas; en cambio la externa mostraba numerosas fibras radiales y paralelas, densamente agrupadas. Describió la presencia de un estrato de células conectivas, dispuestas helicoidalmente sobre la cara timpánica de la mb y las denominó capa celular de la cubierta timpánica.

Hensen (86) realizó un importante y amplio estudio sobre la morfología del oído interno, en el que aparecían definidos los límites de las dos porciones de la mb. La interna, a la que llamó zona arcuata, se extendía desde el labio timpánico del limbo espiral hasta el pilar externo; mientras que la externa o zona pectinata, correspondía a la porción de mb comprendida entre este punto y la cresta basilar del ligamento espiral. Confirmó la distinta configuración estructural de ambas, observando que la interna poseía escasas fibrillas y en cambio, la externa presentaba abundantes fibras, cuyo grosor oscilaba entre 1,4-1,9 μ m. Fué el primero en realizar mediciones de la anchura de la mb.

Boettcher (21) advirtió que en la zona pectinata, las fibras se disponían formando dos estratos paralelos y entre ambos existía una gruesa capa de una sustancia sin estructura. Posteriormente, en 1887 (22), describió

la presencia de conexiones vasculares entre los vasos del ligamento espiral y el situado debajo del túnel de Corti que denominó vaso espiral externo para distinguirlo del interno localizado en el labio timpánico del limbo espiral. No pudo establecer el origen arterial o venoso, de dichos vasos.

Gottstein (70) confirmó los hallazgos anteriores al describir una capa de substancia fundamental en la zona pectinata de la mb.

Una detallada descripción de la mb fué hecha por Nuel (146), el cual consideró que estaba formada por fibras aislables, extendidas desde la habenula perforata hasta el ligamento espiral claramente visibles a nivel de la zona pectinata. Entre sus características generales destacó el ser extremadamente delgadas, cristalinas y de naturaleza elástica. Calculó que la mb humana poseía un total de 54.000 fibras, mientras que en la del cobaya y el conejo, su número sería inferior pero en cambio tendrían un mayor grosor.

Ladowsky (121) consignó que la mb tenía cuatro estratos en la zona pectinata, dos de naturaleza fibrosa y otros dos formados por substancia fundamental, sin embargo, en la zona arcuata solo había una capa fibrosa. Confirmó la presencia de una capa celular, recubriendo la cara timpánica de la membrana.

El gran maestro de esta época fué Retzius (167, 168), cuya detallada descripción anatómica del oído interno de los mamíferos y de los vertebrados inferiores, no ha sido aún superada. Merecen una atención especial, las maravillosas ilustraciones presentes en sus libros y sus datos sobre la evolución embriológica de las distintas especies animales. En la mb distinguió dos porciones, estructuralmente diferentes: la zona arcuata y la pectinata. La primera constituida por una capa bastante gruesa de fibras radiales, dispuestas en haces fibrosos densamente agrupados y por una capa inferior de substancia fundamental muy pobre en estructuras fibrilares, so-

bre cuya cara timpánica se situaban algunas células. La zona pectinata presentaba dos estratos fibrosos, originados al dividirse el anterior a nivel del pilar externo. El superior era delgado y el inferior estaba formado por fibras de gran tamaño, envolviendo a éste último existía una capa de sustancia fundamental, en cuya cara libre se agrupaban las células conectivas. Calculó que la mb tenía un total de 24.000 fibras en el humano y de 15.700 en el gato. En el embrión de conejo, descubrió la presencia de un vaso sanguíneo a la altura del túnel de Corti, que desaparecía después del nacimiento. Le denominó vaso espiral, evidenciándolo posteriormente en otras especies animales. Este vaso aparecía en todas las espiras del embrión de gato a los 8 cm, pero cuando alcanzaba los 30 cm ya no se podía demostrar en la región apical. En su opinión, la inserción medial de la mb se realizaba mediante una placa fibrosa que contactaba con la cara vestibular de la lámina espiral ósea y la lateral, a través de la cresta basilar del ligamento espiral. Es sorprendente, el gigantesco aporte que Retzius ha dado a la morfología del oído interno, máxime si se considera que su única ayuda fue el microscopio óptico.

Durante los 50 años que siguieron a este enorme esfuerzo de -- Retzius, prácticamente no destaca ningún estudio de interés sobre la estructura de la mb. En este período, sin embargo aparecieron múltiples trabajos tratando de resolver otros problemas de los muchos que había planteados en relación con la morfología del oído interno. Shambaugh (186, 187, 188, 189), al estudiar la distribución de los vasos sanguíneos laberínticos, estimó que el vaso espiral debía considerarse como una prolongación de la red capilar. Observó que su trayecto presentaba interrupciones ocasionales, cuya frecuencia parecía aumentar con la edad del animal.

Asai (8) en su análisis del oído interno del perro, incluyó al vaso espiral como parte del sistema venoso. Por el contrario, el examen de la vascularización laberíntica de la rata le llevó a establecer que por este vaso --

fluye sangre arterial (9).

El más completo estudio comparativo de la vascularización del oído interno del cobaya, de la rata, del perro, del gato y del humano, se lo debemos a Nabeya (139). Sus resultados indicaron que los vasos de la rampa vestibular contenían sangre arterial, mientras que los timpánicos pertenecían al sistema venoso. Ahora bien, a nivel del vaso espiral observó una red capilar que daba paso a los dos tipos de sangre, venosa y arterial.

Kolmer (120) sugirió que la porción fibrosa de la mb poseía características similares a las del colágeno y fibras elásticas. Describió las células de la capa timpánica como células mesoteliales, cuyas prolongaciones se entrecruzaban como una madeja ocupando todo el espacio perilinfático en el embrión. Asumió que el distinto grosor de esta capa celular, en las diferentes espiras y cócleas humanas, puede tener alguna relación con la musicalidad, basándose en la teoría de Helmholtz.

Lurie y cols. (130) observaron que los cobayas expuestos a un ruido intenso mostraban, como primer signo de daño o trauma acústico, una desaparición de las células del borde timpánico.

El primer estudio que aporta una cierta información sobre la permeabilidad de la mb, fué realizado por Altmann y Waltner (3), al inyectar pequeñas cantidades de una solución de citrato amónico férrico y de ferrocianuro potásico en el espacio subaracnoideo de 15 conejos, 4 gatos y 9 monos. Observaron que una parte de las sales de hierro penetraba en el interior del órgano de Corti y se localizaba en los espacios intercelulares, después de pasar libremente a través de la mb. Este valioso dato no fué tomado en consideración por Altmann y Waltner, ya que su búsqueda estaba dirigida a encontrar el lugar de formación y absorción de los líquidos laberínticos.

La vascularización de la cóclea fué ampliamente descrita por Smith (192, 193), en el cobaya, en el gato y en el humano, demostrando que el vaso espiral procedía de la red capilar de la lámina espiral. Su presencia fué regularmente observada en el humano y el cobaya; en el gato sin embargo, no se visualizó en seis de los ocho animales estudiados. En el espécimen humano advirtió que con frecuencia, sobre todo en la zona apical, existían conexiones entre dicho vaso y el de la cresta del ligamento espiral, que se sitúan debajo de la pp.

En un estudio histoquímico realizado en la cóclea del murciélago, Plotz y Perlman (153) observaron que las fibras de la mb se teñían intensamente con el método de Hotchkiss, en cambio la sustancia fundamental o interfibrilar presentaba una reacción mucho más débil. Sin embargo, en las conclusiones no expresan ninguna opinión acerca de su posible naturaleza tisular. También anotaron que existía una disminución del grosor de la porción fibrosa de la mb a lo largo del cc siendo mucho más delgada en la región apical que en la basal. En su opinión, estas fibras tienen una distribución estrictamente radial en la pp y un predominio longitudinal en la pt.

La posibilidad de aplicar la microscopía electrónica de transmisión al análisis de los tejidos ha enriquecido enormemente el conocimiento estructural de los mismos. Engström (46, 47) ha sido el pionero en la utilización de esta técnica para el estudio del oído interno. Por primera vez se demostró la presencia de una membrana delgada entre la mb y la membrana plasmática de las células del órgano de Corti, quedando así morfológicamente comprobada la total independencia de ambas estructuras. También observó que la porción fibrosa de la pp poseía dos estratos: uno superior de 600-800 Å de grosor, formado por pequeñas fibrillas paralelas y otro inferior donde éstas se agrupaban en haces radiales gruesos, estableciendo finas conexiones entre ellos. Esta distinta distribución fibrilar le sugirió que el estrato inferior estaba sometido a un factor tensional activo, planteando la

hipótesis de que la mb no constituya una unidad, pues dicho estrato se debfa considerar de forma independiente con unas funciones básicas de soporte y protección del estrato superior. Posteriormente Engström y Wersäll (50) en un amplio estudio sobre el órgano de Corti, comentaron la estructura de la mb utilizando los datos anteriores. En cambio su interpretación fué completamente distinta ya que las diferencias estructurales y funcionales las establecieron entre la pt y la pp.

Engström (48, 49) no encontró ningún signo morfológico a nivel de la mb y/o de la basal, que apoyara la presencia de una comunicación entre la rampa timpánica y los espacios intercelulares del órgano de Corti, en ningún estado evolutivo del cobaya. Con esta información estableció que estos dos compartimentos cocleares eran totalmente independientes, describiendo la existencia de un tercer líquido, la cortilinfá, en el interior del túnel de Corti y de los espacios de Nuel, donde también incluyó el túnel externo de Held. En su opinión, no existían espacios líquidos en la zona de las células ciliadas internas puesto que estaban totalmente rodeadas por los elementos de soporte.

Spoendlin (197, 198) en su estudio sobre la organización estructural del órgano de Corti, comenta algunos datos de interés sobre la mb del gato. Entre ellos destaca la observación de que en los animales adultos, el vaso espiral está obliterado en la porción más baja de la spb. Este hallazgo lo interpretó como la causa probable de que las lesiones precoces del órgano de Corti por trauma acústico asienten a dicho nivel. En sus conclusiones corroboró que la mb constituya una barrera al paso de la perilinfá pues no pudo demostrar ninguna evidencia morfológica que justificara dicha comunicación. Ante la gran superficie ocupada por las células timpánicas sugirió la posibilidad de que éstas tengan alguna relación con el proceso de absorción de los líquidos cocleares e incluso con la formación de la cortilinfá.

Lawrence y cols. (123) estudiaron la ultraestructura de la mb del cobaya, distinguiendo cuatro capas fibrosas. La superior es continua y se compone de fibras radiales que se extienden desde la lámina espiral ósea hasta el ligamento espiral, finalizando en una zona situada por detrás de la estría vascular. Las tres capas restantes también están constituidas por fibras, cuya orientación solo es radial en el tercer estrato, mientras que en el segundo y cuarto se disponen longitudinalmente; todas ellas se inician a la altura del pilar externo y terminan en el ligamento espiral. La última capa muestra una superficie muy irregular, con numerosas y pequeñas prominencias que, a modo de dedos de guante, se introducen entre las células timpánicas. Consideraron que esta disposición de las fibras en capas paralelas, es la responsable de la resistencia intrínseca e impermeabilidad de la mb, ya que dichos estratos en función de su número, naturaleza y grosor, impedirían la difusión a su través.

Después de realizar un estudio histoquímico, Mangabeira-Albernez (132) concluyó que el tejido conectivo de la cóclea difiere marcadamente de los otros tipos de conectivo por su forma de reaccionar frente a las lesiones y enfermedades, aunque histológicamente existen ciertas analogías entre ellos.

Iurato (97, 98) estudió ampliamente la ultraestructura de la mb en la rata y sus hallazgos más significativos ya se han expuesto en la Sección II. La información derivada de su trabajo constituye uno de los pilares básicos en el actual conocimiento morfológico de la mb.

Las primeras tinciones intravitales de la cóclea fueron realizadas en el cobaya, por Tonndorf y cols. (207) para estudiar "in vivo" las modificaciones que experimentan sus elementos estructurales, en función del colorante empleado. Observaron que la porción fibrosa de la mb se teñía indistintamente con sustancias ácidas y básicas, confirmando la naturaleza pro

telca de la misma. Con el azul de metileno visualizaron claramente las zonas de anclaje lateral y medial de la mb, donde las fibras se dividían en finas fibrillas que se distribuían en forma de abanico hacia el interior del ligamento espiral y del labio timpánico del limbo espiral. Un grupo de éstas últimas se fijaba directamente en la lámina espiral ósea: área rugosa de su tabla superior y cara superoexterna de la inferior. Estos hallazgos les inclinaron a considerar que la mb, el ligamento espiral y el limbo espiral constituyan una unidad funcional, denominada por Hurato "estructura de soporte del órgano de Corti". En este estudio también se demostró que todos los colorantes utilizados pasaban al interior del órgano de Corti, atravesando la mb con gran facilidad. Sin embargo los resultados obtenidos no permitieron definir un área específica, como la responsable de dicha comunicación.

En un estudio histoquímico del ligamento espiral humano, Ciges - (31) observó que la banda conectiva de la mb presentaba una reacción PAS positiva y una coloración rojo oscura con la orceína, típica del tejido elástico. Ante esta dualidad PAS-orceína estableció que en la mb se encontraban imbricados más de un componente, de una parte, el tejido elástico que no reaccionaba al método de PAS y de otra, una sustancia PAS positiva de difícil identificación, por ser poco específica y por lo tanto positiva ante mucopolisacáridos, polisacáridos, mucoproteínas, etc. . Además, apuntó que la trama elástica de la mb disminuía notablemente con la edad.

También Gussen (77) comprobó que la mb presentaba una reacción PAS positiva, sugiriéndole que esta estructura estaría formada en su mayor parte por una lámina basal membranosa y por lo tanto, en relación con los mucopolisacáridos característicos de la sustancia fundamental de los tejidos mesodérmicos.

Axelsson (10) realizó un extenso estudio sobre la anatomía vascular de la cóclea, en el hombre y en el cobaya. Observó, en ambas especies

y de forma regular, la presencia del vaso espiral aunque prefirió denominarlo "vaso de la membrana basilar" con el fin de evitar implicaciones erróneas, al poderse interpretar que el flujo sanguíneo se dirigía espiralmente entre - ambos extremos de la cóclea. En el hombre, este vaso era prácticamente continuo a todo lo largo del cc mientras en el cobaya mostraba numerosas inte-rrupciones. Su máximo diámetro se localizó en la spb y el mínimo en la api-cal (spa), pero las variaciones individuales eran tan amplias que estos valores presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los distin-tos animales estudiados.

En los últimos 25 años se ha desarrollado una cierta inquietud por conocer si existía o no, comunicación entre el órgano de Corti y la rampa - timpánica, así como por precisar el área donde se efectuaba dicho paso. Nomura (144) trató de resolver este problema perfundiendo, a través de la vr del cobaya, una solución de N.B.T. (nitro azul tetrazolium) cuya distrib-ción coclear fué analizada con microscopía óptica. Comprobó que la solución atravesaba la mb, bien directamente o por la porción timpánica del ligamen-to espiral pasando al interior del órgano de Corti a través de la dehiscencia existente entre las células de Deiters y las de Hensen. Un estudio similar - fué realizado con microscopía electrónica de transmisión por Ilberg y Vos-teen (94), inyectando a través de la vr del cobaya, una solución coloidal de dióxido de torio. A los pocos minutos demostraron la presencia de sus partí-culas en la porción fibrosa de la mb y a los 30-60 minutos las visualizaron en los espacios intercelulares del órgano de Corti e incluso las encontraron en el interior de las células sensoriales. Basándose en estos hallazgos concluyeron que la mb permitía una comunicación libre entre el órgano de Corti y la perilinfa timpánica.

En cambio, Duvall y Quick (41) obtuvieron unos resultados opues-
tos a los descritos cuando al inyectar partículas de thorotrast, ferritina y
lanthanum en el espacio subaracnoideo del cobaya, únicamente demostraron

su presencia en el citoplasma de las células timpánicas, en los espacios intercelulares del ligamento espiral y en los lisosomas de las células de Claudius. Al analizar estos hallazgos concluyeron que el órgano de Corti constituía un espacio cerrado sin comunicación con la ramba timpánica, ya que la mb formaba una barrera impermeable al paso de cualquier substancia.

Duvall y Sutherland (43) realizaron un nuevo estudio sobre la permeabilidad de las estructuras cocleares en el cobaya, inyectando thorotrast y ferritina en el espacio subaracnoideo y en la vr, respectivamente. Comprobaron una distribución similar para ambos tipos de partículas, cuya presencia demostraron en el citoplasma de las células timpánicas, en los espacios intercelulares del ligamento espiral y en casi todas las células epiteliales de revestimiento. En cambio, no las visualizaron en el epitelio del limbo espiral, prominencia espiral y células del órgano de Corti. Este experimento no modificó su concepto previo de impermeabilidad de la mb, pues consideraron que este paso a los tejidos epiteliales del cc se realizaba a través del ligamento espiral.

Gracias a la microscopía electrónica de barrido ha sido posible examinar cualquier aspecto morfológico de superficie a gran aumento. Lim fué el primero en utilizar esta nueva técnica en el análisis del oído interno (125) y de la superficie timpánica de la mb del cobaya (126). En sus resultados destacó la presencia de espacios libres entre las células timpánicas que permiten el contacto de la perilinfa con las estructuras subyacentes.

Masuda y cols. (134, 135) mediante técnicas radiográficas especiales estudiaron la distribución coclear de la inulina tras su inyección en la vr del cobaya. Apreciaron un gran acúmulo de partículas en los espacios intercelulares del órgano de Corti, en las células timpánicas y en la mb, en cambio, su concentración era menor en la zona de la habenula perforata. - Sorprende comprobar sin embargo que en sus conclusiones no aparece nin-

guna opinión sobre la permeabilidad de la mb, cuando sus datos sugieren que se trata de una ruta importante para la penetración de la inulina al interior del órgano sensorial. Es interesante comparar estos resultados con los obtenidos por los mismos autores en un experimento similar (175), utilizando una suspensión de partículas de carbón que inyectaron en el espacio subaracnoideo y cuya presencia no pudo ser demostrada en el interior del órgano de Corti. Este hecho lo atribuyeron al gran tamaño de las partículas (200-500 Å).

En general, estos estudios de la permeabilidad coclear se interpretaban con cierto escepticismo, por considerar que los compuestos empleados podían mostrar una distribución caprichosa al no ser completamente inertes. La búsqueda de la sustancia óptima para este tipo de investigación, ha conducido a la introducción de la Horseradish peroxidasa (HRP) de probada utilidad para el examen de los espacios extracelulares en estudios previos de permeabilidad capilar (105, 27, 42, 221, 222). La HRP es una proteína con un diámetro de 25 a 30 Å, un peso molecular de 40.000 y de 20.000 para la micro-HRP y su uso requiere una técnica especial (73).

Con estas bases, de Lorenzo y cols. (128) perfundieron HRP durante 15 ó 30 minutos, por la vr del cobaya. Su presencia se evidenció en la prominencia espiral, ligamento espiral, limbo espiral, habenula perforata y espacios intercelulares del órgano de Corti. No pudieron demostrar HRP a nivel de la mb con microscopía electrónica de transmisión, en cambio, con microscopía óptica e inyectando mayor cantidad de contraste, observaron su paso a través de ella. Consideraron que la mb es extremadamente permeable a la HRP y cuando se emplean pequeñas cantidades de la misma, éstas pasan rápidamente al interior de la rampa media sin dejar rastros en dicha estructura.

Simultáneamente al estudio anterior, Duvall y Sutherland (44),

presentaron otro de características similares al inyectar HRP durante 5 ó 10 segundos, en la cisterna magna del cobaya. A los 22 segundos advirtieron partículas libres en el interior del túnel y de los espacios de Nuel, y a los 30 la mb estaba completamente saturada de contraste que ya ocupaba todos los espacios intercelulares del órgano de Corti. Frente a estos hallazgos, concluyeron que la mb no constituía una barrera al paso indiscriminado de HRP, aunque no encontraron áreas o canales específicos que lo justificasen.

Jahnke (101) obtuvo resultados semejantes a los anteriores, inyectando HRP en la vr del cobaya. También observó que estas partículas pasaban rápidamente al interior de las células ciliadas, localizándose sobre todo a nivel de su zona intermedia. Pensó que esta participación celular podría ser muy importante en aquellos procesos con una alta concentración proteica en la perilinfa, como en el caso del schwannoma del acústico. Aunque demostró que la mb era extremadamente permeable a la HRP, consideró que la comunicación más importante, entre el órgano de Corti y la rampa timpánica, se establecía a lo largo de las fibras nerviosas.

Por el contrario, Angelborg (5), introduciendo thorotrast en la perilinfa y endolinfa del cobaya, con diversos métodos y concentraciones, no consiguió demostrar el paso de las partículas al interior del órgano de Corti. Estas quedaron retenidas a nivel de las células timpánicas y en menor cantidad en la sustancia fundamental de la mb, pero nunca se visualizaron por encima del estrato fibroso superior. En sus conclusiones, sugiere la posibilidad de que esta comunicación no solo dependa de la concentración sino también de las características del material empleado y además considera la probabilidad de que las células timpánicas ejerzan una gran influencia en este proceso.

Angelborg y Engström (6) realizaron un estudio morfológico de las

células de la lámina timpánica del cobaya, cuyos resultados se expusieron en la Sección II. Atribuyeron a estos elementos celulares, un importante papel en la defensa antimicrobiana del oído interno, por su capacidad para fagocitar cuerpos extraños.

La ultraestructura de los vasos sanguíneos de la cóclea ha sido descrita por Kimura y Ota (113), en el cobaya. Los hallazgos relacionados con el vaso espiral ya se expusieron en la Sección II. Consideraron que este capilar no presentaba ninguna característica estructural específica y su único interés radicaba en su localización, tan próxima al órgano de Corti.

Kimura (112) realizó un amplio estudio ultraestructural del órgano de Corti en humanos y sus datos sobre la mb concuerdan, en general, con los ya presentados. En sus conclusiones expresó la inexistencia de una evidencia morfológica que indicara una comunicación entre el espacio perilinfaico y el órgano de Corti.

La distribución tridimensional de las células timpánicas ha sido estudiada con microscopía electrónica de barrido, por Shinozaki y Miyoshi (190) en el cobaya. Observaron que las células se disponían longitudinalmente en la spb y en la pt de la región apical, mientras que en la pp formaban una especie de trama semejante a una esponja, cuya orientación era múltiple. Estos resultados les sugirieron que en el desarrollo embrionario de la rampa timpánica existían dos estadios: en el primero se producía un crecimiento en sentido longitudinal y en el segundo, más tarde, se expandía transversalmente. Este hallazgo parece indicar que la pt se desarrolla más precozmente que la pp.

Bruns (29) ha examinado el oído interno del Rhinolophus ferrumequinum con microscopía electrónica de transmisión y de barrido, describiendo ciertos aspectos morfológicos de su mb que la diferencian del resto de -

los mamíferos. Observó que en la región basal, el engrosamiento de la pp tiene un componente timpánico y otro vestibular, cuyos filamentos adoptan una disposición espiral. En su opinión, este hallazgo tiene una gran importancia para explicar las especiales características auditivas de estos murciélagos.

3.2. Revisión morfológico-funcional de la membrana basilar

Los primeros datos conocidos sobre la anchura de la mb proceden de Hensen (86) que la midió a siete niveles diferentes de la cóclea, en un temporal de niño recién nacido. Obtuvo un mínimo de $41\text{ }\mu\text{m}$ en la spb y un máximo de $495\text{ }\mu\text{m}$ en la spa. Estos datos se interpretaron como que la mb se ensanchaba progresivamente y con un ritmo constante desde la base hasta el ápice, cubriendo así la diferencia de 12 veces existente entre ambos extremos del cc.

Las mediciones de Hensen habían sido efectuadas solamente en un hueso temporal, por lo que era aún preciso demostrar su validez para cualquier cóclea en general. Desafortunadamente, los estudios realizados en las siguientes décadas aportaron mayor confusión que claridad en este sentido.

Retzius (168) determinó la anchura de la mb en un temporal humano de adulto, a tres niveles cocleares distintos: basal, medio y apical, sus resultados fueron de $210\text{ }\mu\text{m}$, $340\text{ }\mu\text{m}$ y $360\text{ }\mu\text{m}$, respectivamente, siendo estos datos los más utilizados desde entonces. También midió dicho parámetro en seis conejos y ocho gatos, encontrando en los primeros, una media de $30\text{ }\mu\text{m}$ en la spb, $360\text{ }\mu\text{m}$ en la spm y $410\text{ }\mu\text{m}$ en la spa y de $350\text{ }\mu\text{m}$ en la spm de los segundos. Además estableció que la longitud de la mb era de $33,5\text{ mm}$ en el hombre, de $23,5\text{ mm}$ en el gato y de $14,5-16\text{ mm}$ en el conejo.

Kolmer (119) estudió la anchura de la mb en varias especies, incluyendo los animales domésticos y los monos, pero sus medidas se limita-

ron también a una o dos cócleas de cada uno de los grupos establecidos.

Las mejores observaciones de esta época sobre la anchura de la mb corresponden a Wrigthson y Keith (225), cuyas medidas realizadas en cuatro temporales humanos se acompañan de una estimación aproximada sobre su localización coclear. En uno de los especímenes, este parámetro tenía un valor de $176\mu\text{m}$, a los 7 mm de la vr y de $400\mu\text{m}$, a los 33 mm de la misma, - mientras la media obtenida para los otros tres fué de $160\mu\text{m}$ y $520\mu\text{m}$, en las proximidades de los extremos basal y apical respectivamente.

En un estudio sobre el desarrollo del oído de la rata, Wada (209) realizó mediciones de la anchura de la mb a cuatro niveles distintos en un gran número de animales, cuyas edades oscilaban entre 1 y 546 días, pero de todos ellos, solo 13 habían alcanzado un grado de madurez total. Al analizar sus resultados, concluyó que dicho parámetro experimentaba un aumento progresivo de la base a la región apical.

Held (84) determinó la anchura de la mb en el temporal de un hombre adulto, obteniendo $176\mu\text{m}$, $304\mu\text{m}$ y $480\mu\text{m}$, en las espiras basal, media y apical, respectivamente; pero en un segundo grupo de mediciones, encontró unos valores de $104\mu\text{m}$, de $336\mu\text{m}$ y de $554\mu\text{m}$ para los mismos niveles. Estudió el extremo basal en otra cóclea de adulto, hallando a su nivel un mínimo de $80\mu\text{m}$.

Todos estos datos tenían el gran inconveniente, de no precisar suficientemente la situación de los puntos de medida a lo largo del cc. Su posición estaba expresada en términos tan vagos como en la spb, cerca del extremo apical, etc... Gullid (75) superó este problema con la introducción de un método para la reconstrucción gráfica del órgano de Corti, que permitiera la localización espacial de sus distintas estructuras (Sección II).

Guild (76) aplicando su método al cobaya, reconstruyó tres temporales para localizar las nueve posiciones donde la mb había sido seccionada radialmente. Posteriormente, utilizó estos datos para fijar con aproximación dichas áreas en otros 32 oídos, donde midió la anchura de la mb. Sus resultados demostraron que, efectivamente, este parámetro experimentaba un aumento progresivo, a lo largo del cc, pero la razón de su incremento variaba ampliamente desde su extremo basal al apical. Encontró la máxima anchura casi una espira antes del ápice y una vez sobrepasado este punto, observó que decrecía rápidamente. Obtuvo un mínimo medio de $62\text{ }\mu\text{m}$ y un máximo medio de $209\text{ }\mu\text{m}$, que representa una variación de 3,35 veces entre ellos. Estos valores oscilaron entre $49 - 73\text{ }\mu\text{m}$ y entre $198 - 228\text{ }\mu\text{m}$, respectivamente.

La longitud de la mb humana fue determinada por Hardy (80) en 68 cócleas, utilizando el método de reconstrucción gráfica de Guild, obtuvo un valor medio de $31,5\text{ mm}$, con un mínimo de $25,3\text{ mm}$ y un máximo de $35,5\text{ mm}$.

Wever (215), con la ayuda del método de Guild, estudió la anchura de la mb humana en 25 cócleas, cuya sección realizó en un plano modular horizontal y vertical. Midió este parámetro en 19 posiciones que incluían 6 radiales y 13 oblicuas, aplicando a estas últimas un factor de corrección específico para cada una de ellas. En general, sus resultados fueron semejantes a los de Guild, existiendo únicamente diferencias cuantitativas entre sus medidas. Obtuvo un mínimo medio de $80\text{ }\mu\text{m}$ y un máximo medio de $498\text{ }\mu\text{m}$, que representa una diferencia de 6,25 veces entre ambos valores. También midió la longitud de la mb, encontrando oscilaciones entre $31,4$ y $35,5\text{ mm}$.

Keen (106) describió un nuevo método de reconstrucción coclear (Sección II). En él se introduce un factor de error mayor que con el clásico de Guild, pues no se tiene en cuenta la diferente orientación espacial de la región basal y además cada espira se representa por un círculo, cuyo diá-

metro solo puede ser determinado en secciones centro-modiolares. Todas estas consideraciones han conducido a que su empleo no haya adquirido una gran divulgación. Sus mediciones de la longitud de la mb reflejan los siguientes resultados: en el hombre 32 mm, en el cobaya 21 mm, en la oveja 35 mm, en el gato 20 mm, en el perro 24 mm y en la ternera 33 mm.

Perlin (151) midió la anchura de la mb de 10 cobayas en 26 posiciones distintas, que determinó con el método de Guild. En las secciones oblicuas, los datos fueron obtenidos indirectamente mediante una deducción geométrica. Observó que existen amplias variaciones individuales a nivel de la porción basal y apical de la cóclea, siendo mucho menos marcadas en la zona localizada entre el 25 y el 85% de su longitud. Basándose en estos hallazgos, consideró que las modificaciones experimentadas por la anchura de la mb a lo largo del cc no deben ser expresadas cuantitativamente, sino por medio de gráficas individuales pues poseen demasiadas variables. El máximo se localizó, aproximadamente, una espira antes del extremo apical y su valor medio fué de $228\text{ }\mu\text{m}$; en cambio el mínimo no fué determinado, utilizando el obtenido por Guild, $62\text{ }\mu\text{m}$, cuya relación con el anterior, indica un factor de unas 3,70 veces. La longitud de la mb en el cobaya osciló entre 13,8 y 18 mm, - con una media de 16,1 mm.

Fernandez (61) determinó la anchura, longitud y grosor de la mb en 12 temporales de cobaya, utilizando secciones seriadas centro-modiolares y el método de reconstrucción coclear, para localizar su posición. Midió la anchura con un objetivo ocular milimetrado y los límites fijados fueron: la cresta basilar del ligamento espiral, lateralmente y el borde externo de la habenula perforata y de la lámina espiral ósea, medialmente. Observó que la anchura de la mb aumenta de forma brusca en los dos primeros milímetros, para después progresar más lentamente y alcanzar su máximo en la mitad de la spa, decreciendo una vez sobrepasada esta zona. Su valor máximo fué de $250\text{ }\mu\text{m}$ en las determinaciones realizadas hasta la habenula perforata y de

340 μ m cuando alcanzaban la lámina espiral ósea. Comprobó que sus resultados eran similares a los obtenidos por Guild en el cobaya; pero al compararlos con los datos de Wever, observó que aunque existe cierta semejanza entre ellos en el primer 30 % de su longitud, en el 70 % restante, la mb humana mostraba un mayor aumento. En cambio encontró que la localización de la máxima anchura corresponde al mismo porcentaje de la longitud coclear, en ambas especies. La longitud media de la mb fue de $18,8 \pm 0,5$ mm, que se distribuye en 8,5 mm, 4,8 mm, 3,4 mm y 2,1 mm para cada una de las espiras. El grosor de la sustancia intercelular era de 7,4 μ m, en el comienzo de la spb y de 1,3 μ m, en la spa, aunque no indica el nivel radial exacto de estas mediciones.

Dentro del estudio morfológico de la mb que ha realizado Iurato (96) en la rata, existen determinaciones del grosor de la sustancia intercelular en la porción basal, media y apical, sin precisar su localización a lo largo de la cóclea. Sus resultados (Sección II) muestran que este parámetro presenta claras variaciones longitudinales, tanto en la pt como en la pp.

En los últimos quince años, Pye (154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162) ha desarrollado un extenso trabajo sobre el oído interno de los murciélagos, roedores y algunos otros mamíferos, donde determinó el grosor de la sustancia intercelular y la anchura de la mb. Sus resultados están en función del animal estudiado y poseen una gran imprecisión en la localización del área analizada. Los datos obtenidos en los quirópteros muestran que el grosor de la sustancia intercelular es más prominente en la spb y oscila entre 10 ó 20 μ m, aunque en Hipposideros y Rhinolophos puede incluso sobrepasar las 50 μ m, sin embargo este engrosamiento desaparece en la tercera o cuarta media espira de la cóclea. Los roedores en cambio presentaban valores discordantes y su máximo grosor a veces se situaba en la parte alta de la spm (Heteromyidae), en la tercera media espira (Gerbillos) o en la porción basal (Meriones). Webster y Webster (212) confirmaron estas

variaciones en los Heteromyidae y sus hallazgos son similares a los expuestos por Pye (154). Respecto al segundo parámetro comprobó que la mb experimentaba un ensanchamiento variablemente progresivo desde la base hasta el ápice, con características específicas para cada especie. Como excepción a este patrón típico observó que los Rhinolophos tienen su zona más estrecha en la parte alta de la spm. Este hecho ha sido corroborado posteriormente por Bruns (28) en su detallado estudio sobre el Rhinolophos ferrumequinum.

Igarashi y cols. (92) determinaron la anchura de la mb en 24 cócleas de mono, 20 de gato y 12 de rata, efectuando las mediciones en secciones centro-modiolares con un objetivo ocular milimetrado. No estudiaron los primeros cinco milímetros, ni tampoco los tres últimos apicales. Sus observaciones se limitan a expresar que existe un constante aumento de la anchura de la mb desde la porción basal a la apical en las tres especies. Tampoco han incluido los datos cuantitativos, aunque hacen referencia a que sus resultados están en total concordancia con los obtenidos por otros autores. El valor medio de la longitud de la mb fue de 22 mm en el gato, de 20 mm en el mono y de 8 mm en la rata.

En un estudio histológico de los cambios producidos por la otosclerosis en la cóclea humana, Antolí-Candela y cols. (7) determinaron la anchura de la mb en 10 temporales normales y en 17 otosclerosos, obteniendo datos similares en ambos grupos. Este parámetro se midió a cuatro niveles distintos del cc, correspondientes a la localización de las secciones radiales y, como su posición varía en función de la longitud, normalizaron ésta a un valor medio de 32 mm. Los límites se fijaron a nivel de la cresta basilar, lateralmente y del surco interno, medialmente. Por el método empleado solo pudieron analizar la anchura de la mb comprendida, entre los 10 y los 30 mm, observando que la razón de su ensanchamiento era casi constante, entre los 12 y los 24 mm, pero a partir de esta zona aumentaba notablemente y en el extremo apical aparecía una mayor dispersión de los resultados que en el

área de los 10 mm. La longitud media de la mb fué de 32,3 mm y sus valores oscilaron entre 29 y 34,6 mm.

Ehret y Frankenreiter (53) midieron la longitud, anchura y grosor de la mb en 49 cócleas de ratón con microscopía de contraste de fase. La longitud media obtenida fué de $6,84 \pm 0,16$ mm. Establecieron que la mb presenta su mínima anchura, $40\mu\text{m}$, en la base de la cóclea y la máxima, $160\mu\text{m}$, a 1,5 mm del extremo apical, pero una vez superada esta zona decrece lentamente. El grosor de la substancia intercelular era únicamente $1\mu\text{m}$ en el ápice coclear y $14,5\mu\text{m}$ en el primer milímetro basal.

Las especiales características auditivas de los murciélagos han dado origen a numerosos trabajos que tratan de descifrar su morfología coclear. Henson (87) ha estudiado 10 oídos de *Pteronotus p. parnellii* con microscopía óptica y electrónica de barrido. Observó que la anchura de la mb, medida entre la lámina espiral ósea y la cresta basilar del ligamento espiral, variaba muy poco excepto en los extremos del cc. Así demostró que a partir de un mínimo de $40\mu\text{m}$ en la base alcanzaba las $80\mu\text{m}$ en el comienzo de la spb y después se ensanchaba muy poco, $90\mu\text{m}$, hasta las proximidades de la spa, donde de nuevo sufre un brusco incremento, $115\mu\text{m}$. La longitud media fué de 13,2 mm, correspondiendo 7,5 mm a la spb, 3,7 mm a la spm y 1,3 mm a la spa. El grosor de la substancia intercelular, al igual que la mayoría de los quirópteros, oscilaba entre 15 y $20\mu\text{m}$ en la región basal y era prácticamente inexistente a nivel del ápice coclear.

Ramprashad y cols. (163, 164) efectuaron un estudio morfométrico en 9 cócleas de *Myotis lucifugus*, con microscopía óptica. La longitud media obtenida fué de 6,9 mm y los valores variaron entre 6,8 y 7,1 mm. Sus resultados muestran que el comportamiento de la anchura de la mb a lo largo del cc, tomando como límites el pilar interno y la cresta basilar del ligamento espiral, es similar al descrito en el párrafo anterior: $57\mu\text{m}$ en la base, 93

μm al milímetro y medio, $98 \mu\text{m}$ en la zona de los 5,3 mm y $115 \mu\text{m}$ en la de los 5,9 mm. También determinaron el área de sección de la substancia intercelular, comprobando que el máximo grosor de la pt se localiza a los 2,7 mm de la vr y el de la pp, a los 2 mm de distancia.

El *Myotis myotis*, quiróptero muy común en España, ha sido estudiado por nosotros (30, 191) con microscopía óptica. Los datos relativos a la mb no difieren de los previamente expuestos excepto en su aspecto cuantitativo. Su longitud media fue de $6,35 \pm 0,25$ mm. La máxima anchura de la mb, $147,18 \pm 8,91 \mu\text{m}$, se obtuvo en un área situada a unos $5,20 \pm 0,09$ mm de la vr y la mínima $123,37 \pm 4,31 \mu\text{m}$, se determinó a unos $2,28 \pm 0,08$ mm de la misma, puesto que las limitaciones del método empleado impidieron realizar mediciones radiales de las zonas más basales. Tanto la pt como la pp participaban de una forma similar en estas variaciones de la anchura total de la mb.

3.3. Revisión de la fisiología de la membrana basilar

En este apartado se hace una breve exposición del papel que se ha atribuido a la mb dentro de las distintas teorías auditivas. En general, se acepta que todo estímulo sonoro va asociado a un movimiento del estribo, que origina un desplazamiento del líquido perilinfático y vr, produciendo un cambio en la posición de su membrana. Este movimiento líquido conduce a una vibración de la mb, que a su vez excita el mecanismo sensorial y éste genera a una serie de impulsos que alcanzan los centros superiores, a través del nervio auditivo (138).

Evidentemente esta idea general de la fisiología auditiva constituye una visión simplista del complejo análisis y codificación de los estímulos, llevado a cabo por la cóclea, del que aún hoy existen algunos puntos oscuros. Por lo tanto, no es extraño que tanto la dinámica coclear, como el patrón vi

bratorio de la mb hayan sido objeto de intenso interés y discusión durante varias décadas.

Helmholtz (85) fué el primero que realizó un estudio serio y extenso sobre la audición. Formuló la teoría de la resonancia, donde expone que el análisis de las frecuencias por el oído, se debe a que cada tono audible tiene un lugar de acción específico en la mb. Cuyas fibras transversales actúan como resonadores, estando cada una de ellas afinada a una frecuencia diferente. De esta forma, el estímulo afectaría exclusivamente a un solo grupo de fibras y la excitación neural se localizaría en dicha zona. La defensa de esta teoría se apoyaba en las variaciones anatómicas de los filamentos a lo largo del cc. Helmholtz consideró explícitamente su longitud, como único factor determinante y citó las observaciones de Hensen sobre la anchura de la mb, admitiendo un ensanchamiento progresivo de la misma desde la spb a la spa que cubre una diferencia de 12 veces entre ambos extremos del conducto. Wever (216) estimó la longitud, la masa y la tensión de las fibras, concluyendo que la mb se encuentra muy lejos de presentar todos los requerimientos físicos necesarios para constituir una serie de resonadores altamente afinados.

La teoría telefónica de Rutherford (216) sugiere que la mb vibra uniformemente en toda su longitud y la amplitud representa la intensidad del estímulo. Por otra parte, considera que la frecuencia se determina por la velocidad de descarga de las fibras nerviosas. Tal hipótesis reduce la compleja distribución de las terminaciones del nervio auditivo a una función puramente conductora atribuyendo al sistema nervioso central todos los problemas relacionados con el análisis de las frecuencias. Este punto de vista no se puede aceptar a la luz de los conocimientos actuales en neurofisiología, ya que el período refractario de acción nerviosa limitaría, a menos de 1000 Hz, la frecuencia superior del sistema.

La "teoría de las descargas" (216) asume que la deformidad de la mb provoca la respuesta asíncrona de un grupo de fibras nerviosas. La frecuencia del estímulo se presenta al sistema nervioso central en forma de descargas secuenciales progresivas: pares, tríos, cuartetos, etc. Estudios posteriores han demostrado que no existe tal patrón de descarga para los estímulos de alta frecuencia.

Una teoría que no pertenece al grupo de la resonancia y tuvo cierta aceptación en su tiempo, fué la propuesta por Ewald (57) y conocida como "del patrón del sonido". En ella sugirió, que el movimiento sinusoidal del estribo produce una serie de pequeñas ondas localizadas en una zona de la mb, mientras el resto permanece inmóvil y sus características vibratorias varían con la frecuencia. Frente a ellas, el sistema nervioso tendría la función de traducir los distintos patrones mediante el análisis de la distancia existente entre las ondas y de la amplitud de las mismas.

Por último está el grupo de las teorías que consideran la existencia de una onda de desplazamiento, sistemática y progresiva, a lo largo de la mb que produce una estimulación local en su camino. El primero en formular esta hipótesis fué Hurst (91) y ha sido, desde entonces, ampliamente aceptada. Existen dos tendencias, una propone que la progresión de la onda es una propiedad de la mb y otra que la considera como una consecuencia de la interacción entre el líquido y la membrana.

Von Békésy consideró que este problema solo se podría resolver observando directamente la mb durante la presentación del estímulo. Así, a partir de su serie de experimentos, iniciados en 1928, se ha desarrollado la mayor parte del conocimiento actual sobre la mecánica coclear.

En el cadáver humano y en animales de experimentación, determinó y midió el movimiento del cc producido como respuesta a un tono puro (18).

Registró su amplitud en varias zonas para las frecuencias comprendidas entre los 25 y los 1.600 Hz, ya que no pudo utilizar otros más altos debido a la limitación impuesta por el método. Cálculos basados en mediciones de las diferencias de fase y de la máxima amplitud de desplazamiento de la mb, le permitieron deducir la forma de vibración del cc para una determinada frecuencia en cada instante (19). Con estos datos demostró que el patrón de movimiento en la cóclea corresponde a una onda de desplazamiento. Ahora bien, este fenómeno difiere del producido a lo largo de una cuerda a tensión, en que, independientemente de la zona de penetración del estímulo, la onda posee siempre las mismas características. En cualquier caso, la respuesta aparece casi simultáneamente en un gran segmento de la spb y es seguida por un tiempo de retraso progresivamente mayor a medida que el desplazamiento se dirige hacia la región apical.

También observó que la amplitud de la onda aumenta lentamente - hasta alcanzar un máximo decreciendo después. Este lugar de máximo desplazamiento de la mb varía sistemáticamente con la frecuencia, localizándose en la base, para las frecuencias altas y en el ápice, para las más bajas (17). Estudios posteriores (202, 39, 108, 173) han demostrado que cada neurona auditiva primaria es más sensible a una frecuencia característica, cubriendo de esta forma todo el espectro auditivo. A niveles acústicos altos, cada una de ellas responde a una gama más amplia de frecuencias; en cambio, las que son inferiores a 5 KHz muestran fluctuaciones cíclicas, cuya probabilidad de respuesta sigue muy de cerca la periodicidad tonal del estímulo. Esta observación de que neuronas procedentes de distintas zonas cocleares poseen diferentes frecuencias características y cuya respuesta refleja perfiles tonales en relación con la réplica mecánica de la mb a dichos tonos, confirma la importancia funcional de esta estructura.

Schuknecht y Sutton (182) han demostrado que la ruptura de la mb en su porción más basal, producida por un traumatismo mecánico directo, no

afecta el umbral de audición para los tonos bajos. Este hallazgo indicó que la presencia de pequeñas soluciones de continuidad en la mb, no interfiere con la progresión de la onda de desplazamiento.

Poco después, Wever y Lawrence (217), establecieron que la mb recibía la energía de una onda de presión que se desplazaba rápidamente a través del líquido. Sin embargo el patrón vibratorio estaba determinado, fundamentalmente, por las características morfológicas de la misma. Wever, Lawrence y von Békésy (218) aclararon que el término "onda de desplazamiento" aplicado a la mb, indicaba simplemente una secuencia temporal de los hechos. Davis (38) y Tonndorf (205) hicieron también énfasis en este punto de la terminología.

Los hallazgos de von Békésy se han confirmado posteriormente mediante el efecto Mössbauer (102, 170), los experimentos con rayos laser (116, 117, 118) y la obtención de los microfónicos cocleares (213, 219).

La mb, aunque es un elemento muy importante en el análisis de las frecuencias auditivas, no puede, por sí misma, explicar totalmente dicho fenómeno. La objeción asienta en el hecho de que el desplazamiento de la mb no tiene una pendiente en la curva intensidad-frecuencia, tan pronunciada como la respuesta neural (54, 68, 172, 56). Este dato, sin embargo, no invalida su gran valor en la selectividad de frecuencias, sino que indica la existencia de otro proceso de filtración que se puede llevar a cabo en el neuroepitelio o a nivel neural propiamente dicho (segundo filtro). Russel y Sellick (174) observaron que los potenciales de las células ciliadas internas poseían una curva intensidad-frecuencia similar a la de la respuesta de las fibras nerviosas, asumiendo que este segundo filtro se localizaba a su nivel. Unos resultados análogos fueron obtenidos por Manley (133) al desarrollar su modelo coclear y por Goodman y Smith (72) en su serie de experimentos cuantitativos. Previamente a estos datos, se había considerado que este fenómeno

de filtración se producía por influencias inhibitoras recíprocas entre las fibras nerviosas de las células ciliadas internas y externas (131, 55, 228). Recientemente, Zwislocki y Ketsky (229) han apuntado que las células ciliadas externas poseen una agudeza semejante a la de las internas.

En resumen, el paso del sonido por la cóclea se realiza mediante una onda de presión a través del líquido perilinfático. A partir de ella se produce una transferencia de energía al cc, cuyos componentes radiales al vibrar producen la impresión óptica de que existe una onda móvil a su nivel. El patrón vibratorio depende, fundamentalmente, de las propiedades íntimas de la mb y se caracteriza porque la amplitud de la onda aumenta gradualmente desde la base hacia el ápice coclear, hasta alcanzar un máximo cuya localización depende de la frecuencia y, una vez sobrepasado éste, disminuye rápidamente. La mb en su extremo basal vibra prácticamente en fase con el estímulo, mientras que a la altura de su máximo desplazamiento muestra un cierto retraso.

IV. MATERIAL Y METODOS

IV. MATERIAL Y METODOS

4.0. Introducción

En este estudio se han utilizado 19 cócleas procedentes de 15 gatos, cuyas características se describen en el Ap. 4.1. De ellas, ocho se han analizado con microscopía óptica, seis con microscopía electrónica de transmisión y las cinco restantes con microscopía de contraste de fase.

A pesar de que estas tres técnicas microscópicas difieren ampliamente entre sí, poseen algunas etapas comunes en su desarrollo. En todas ellas la pieza de estudio precisa de su:

- A) Fijación. Siempre fue intravital con el fin de disminuir al máximo los cambios autolíticos postmortem (62, 63).
- B) Obtención. Debe ser muy cuidadosa para evitar posibles lesiones traumáticas.
- C) Preparación. Así alcanza el grado de dureza necesario para su corte o fragmentación que facilita el posterior examen de la misma.

El desarrollo de cada una de estas etapas es diferente y específico de cada técnica. Por lo tanto al describir su metodología se considerarán los aspectos característicos de las distintas fases del proceso para la microscopía óptica (4.2.), la electrónica de transmisión (4.3.) y la de contraste de fase (4.4.).

Por último, se ha incluido un nuevo punto dentro de la sistemática general en donde se exponen los estudios llevados a cabo con cada una de ellas.

4.1. Material

Se utilizaron 15 gatos sin signos que sugirieran patologfa del oído medio y cuyos potenciales acústicos eran normales. Fueron suministrados por el Servicio de Animales del Eaton Peabody Laboratory de Boston y se clasificaron en tres grupos:

Grupo I, formado por cuatro gatos adultos, cuyo peso medio era de más de 2 Kg. En total se obtuvieron ocho temporales que se estudiaron con microscopfa óptica.

Grupo II, compuesto por seis gatos, tres eran animales adultos con un peso superior a los 3 Kg y los otros tres eran pequeños con un peso menor de 1,5 Kg. De cada animal se obtuvo una sola cóclea, seis en total, cuyo análisis se efectuó con microscopfa electrónica de transmisión.

Grupo III, constituido por cinco gatos adultos cuyo peso medio superaba los 3 Kg. De cada animal se obtuvo también una sola cóclea, cinco en total, que se procesaron con la técnica de microscopfa de contraste de fase.

En los grupos II y III se tomó, únicamente, una cóclea de cada animal con el fin de que no existiera otra analogfa que la de proceder de la misma especie. En cambio, en el grupo I se extrajeron los dos temporales para así determinar las diferencias cuantitativas que mostraban entre ellos y con otros especímenes distintos, a nivel de la mb. La distinción efectuada en el grupo II, entre animales jóvenes y adultos, se realizó en función de su peso, tamaño y estado de nutrición, desechando todo gato que presentó alguna duda.

4.2. Método para estudio del temporal con Microscopfa Óptica

Schuknecht (176) describió en 1953, una técnica histológica del hueso temporal para su examen con microscopía óptica. Posteriormente la modificó (180), estableciendo las normas generales de este método, que consta de las siguientes etapas:

4.2.1. Fijación del temporal. Técnica de perfusión arterial

Esta técnica consiste en lavar la sangre del aparato circulatorio del animal con una solución salina isotónica templada para seguidamente introducir la fijadora (148). La solución de Heidenhain-Susa fue la elegida para perfundir los cuatro gatos del grupo I, por sus excelentes resultados sobre la cóclea (176).

El sistema de perfusión se compone de dos frascos (300-500 cc) que se colocan sobre un soporte a unos 122 cm de altura. De su porción inferior parten sendos tubos de goma flexible que se conectan en Y. El extremo libre muestra una cánula de plástico o cristal, cuyo tamaño se adapta perfectamente a la aorta ascendente del animal. Este se anestesió con una inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico (Nembutal 0,7 cc/Kg de peso). A continuación se practicó una incisión medial desde el cuello hasta el borde inferior del esternón que se completó con otra transversal a nivel del último espacio intercostal. Las costillas del lado izquierdo se cortaron en su punto de inserción esternal y en la línea axilar media, para así obtener una amplia exposición del área cardíaca.

La aorta descendente se pinzó cerca del diafragma puesto que solo interesaba perfundir la mitad superior del gato. El pericardio se extirpó, efectuando un pequeño corte en el extremo inferior del ventrículo izquierdo por donde se introdujo la cánula hasta alcanzar la aorta ascendente donde se fijó. Después se abrió la aurícula derecha para permitir la salida de la sangre y de los líquidos. En ese momento se inició la fase de lavado con la

solución salina isotónica que se consideró concluida cuando adquiría un color rosado claro, dando paso a la solución de Heidenhain-Susa. Como signos indicadores de que la fijación se está realizando de forma correcta, aparecen unos movimientos en las extremidades superiores y una contractura progresiva del cuello, cuya total rigidez señala la terminación de la perfusión (210).

4.2.2. Obtención del temporal

El animal se decapitó por la parte más alta del cuello, con objeto de obtener solo la cabeza. En ella se practicó una incisión medial desde el agujero magno hasta el dorso de la nariz, despegando todos los tejidos blandos y músculos de la calota craneal. Con su cara inferior hacia arriba para localizar las bullas y los conductos auditivos externos se dividió por delante de ellos en dos mitades, de las que solo se utilizó la posterior.

La eliminación del parietal dejó al descubierto el cerebelo que se retrajo suavemente hasta visualizar los nervios auditivo y facial en el poro acústico, seccionándolos cuidadosamente a su nivel. Del mismo modo se liberó el tronco cerebral comprobando siempre que no existiera tracción nerviosa alguna. De esta forma se obtuvo una pieza ósea única con las bullas y los temporales unidos por el occipital, y previa apertura de aquellas se mantuvo en solución de Heidenhain-Susa a 4°C, durante 48 h.

4.2.3. Preparación del temporal

Esta etapa es la más larga de todo el proceso y precisa de un gran cuidado en su ejecución, ya que cualquier alteración del mismo se verá reflejada en el resultado final. El temporal una vez fijado, tiene que pasar sucesivamente por las siguientes fases:

4.2.3.1. Decalcificación

Este paso es necesario, puesto que la gran dureza del temporal - impediría su corte. La decalcificación no debe ser incompleta ni excesiva, pues en ambos casos se producirán grandes desgarros al obtener las secciones debido a la distinta consistencia de sus estructuras. Se utilizó el ácido tricloroacético al 5%, por considerar que provoca menos artefactos a nivel de los elementos sensoriales.

La pieza se coloca en ácido tricloroacético al 5%, renovando dicha solución tres veces por semana. El exceso del tejido innecesario se recorta semanalmente y cuando la dureza ósea lo permite, se abre el canal semicircular superior para facilitar la circulación coclear de las distintas soluciones. La duración de esta fase es variable, unos 20 días aproximadamente y su finalización se reconoce por la negativización del test del calcio, en dos tomas consecutivas.

4.2.3.2. Neutralización y Deshidratación

Para eliminar los restos de ácido tricloroacético del temporal, la pieza ósea se pasa sucesivamente por:

- A) Agua corriente 24 horas
- B) Solución de sulfato de sodio al 5% 24 horas
- C) Agua destilada 12 horas

Con objeto de que los temporales pierdan todo el agua que poseen, durante once días son pasados por una serie de soluciones alcohólicas de concentración creciente. Se comienza por etanol al 50% y se termina con una solución 1:1 de etanol al 100 % y éter.

4.2.3.3. Inclusión

El medio de inclusión utilizado fué la celoidina (pariodion) que se diluye mediante un agitador mecánico, en una solución 1:1 de alcohol etílico al 100% y éter. La mezcla se prepara varios días antes de su empleo, para que la solución sea uniforme. La duración de este período es de 12 semanas, distribuidas de la siguiente forma:

- A) Celoidina al 1,5% 1 semana
- B) Celoidina al 3% 3 semanas
- C) Celoidina al 6% 4 semanas
- D) Celoidina al 12% 4 semanas

4.2.3.4. Endurecimiento y obtención del bloque

Al terminar el período de inclusión, los frascos abiertos se colocan en un desecador con cloroformo para facilitar la evaporación del alcohol y del éter, sin formar burbujas aéreas. A las dos semanas se sacan, manteniéndolos a la temperatura ambiente con una capa de cloroformo sobre su superficie. La celoidina se recorta hasta obtener un bloque rectangular, que se introduce en cloroformo. Cuando el bloque, flotante en un principio, se va al fondo, es señal de que posee la dureza correcta.

4.2.4. Corte del temporal y obtención de las secciones

El corte seriado del temporal se efectuó con un microtomo deslizante ajustado a 20 µm, en un plano horizontal y paralelo al eje del modíolo. El bloque de celoidina, con la cara superior del temporal hacia arriba, se coloca sobre un soporte que, además de fijarlo, permite realizar pequeños ajustes en su posición.

La orientación del hueso temporal para obtener un ángulo de corte adecuado es difícil, pues no se ha establecido regla alguna que permita su reconocimiento en las primeras secciones. Por lo tanto, en esta fase de comienzo hay que basarse en el conocimiento perfecto de la anatomía del oído y de la relación espacial de sus estructuras. El plano del canal semicircular superior, fácilmente visible a través de la celoidina, debe ser perpendicular al de la cuchilla. Se consideró que este ángulo era correcto cuando, en cortes más avanzados, su ampolla aparecía simultáneamente con la cara superior del martillo y del yunque, sin que aún se apreciaran los otros dos canales semicirculares. Ahora bien, nunca se modificó la posición del temporal, a partir del momento en que el plano de corte alcanzó la cóclea.

En cada temporal se obtuvo una media de 250 secciones que se colocaron sobre unos cuadraditos de papel cebolla numerados consecutivamente, separando una de cada diez para su tinción inmediata. Los cortes restantes se guardaron en etanol al 80%, para su posterior utilización si fuese necesario.

4.2.5. Tinción y Montaje de las secciones

Como ya se ha indicado, una de cada diez secciones, aproximadamente unas 25 por temporal, se tiñeron con hematoxilina-eosina. Este número se consideró suficiente para el tipo de información requerida, pues en caso de precisar algún dato intermedio siempre podría obtenerse sin dificultad. Es importante guardar los cuadraditos de papel cebolla, como referencia para su numeración ulterior.

Estas secciones ya teñidas se montan sobre un portaobjetos de crystal con su diámetro mayor perpendicular al eje del modíolo, la región apical dirigida hacia abajo y la cóclea derecha siempre en su lado. Todas ellas deben mantener una posición similar a lo largo de la serie, para facili

tar su examen microscópico. Una de las formas de conseguirlo consiste en trazar sobre un papel dos líneas verticales que coincidan con el eje de sendos modiolos y otra horizontal que pasa por la mb de la spb de ambos temporales. Este dibujo sirve de referencia para el montaje de las secciones, pero cuando éstas son muy altas y no aparece la cóclea es necesario buscar es estructuras comunes, cuya superposición en cortes consecutivos localiza su posición.

Las secciones se ordenan en secuencia anatómica, comenzando por los cortes más altos y en el portaobjetos se escribe el número del gato y el del corte. De esta forma, se obtiene una colección de secciones seriadas procedentes de un temporal de gato, lista para su estudio con microscopía óptica.

4.2.6. Método de obtención y análisis de datos

Las ocho colecciones de secciones seriadas horizontales del hueso temporal se usaron para determinar la longitud media y la anchura de la mb.

4.2.6.1. Determinación de la longitud media. Obtención del cocleograma estándar

Cada una de las ocho cócleas se reconstruyó siguiendo el método de Guild (75). Para su desarrollo se utilizó una hoja grande de papel milimetrado escribiendo, vertical y consecutivamente, sobre las líneas horizontales de su margen derecho, los números de los cortes que contenían el órgano de Cortí. Estas secciones se estudiaron al microscopio óptico seleccionando aquellas localizadas en el plano tangente a la línea de contacto de las cabezas de los pilares externos e internos, cuya posición se marcó con un punto sobre la línea vertical común trazada en el centro del papel. La cóclea del gato al tener un poco más de tres espiras presenta seis puntos tan

gentes que se unen mediante semicírculos, representando una media espira - cada uno de ellos.

La localización de los extremos basal y apical de esta línea requiere la medición individual de los mismos. Para la determinación de este último, se busca la sección más apical que muestre aún la unión de las cabezas de los pilares y se mide la distancia que hay desde este punto al correspondiente de la media espira contigua. Multiplicando el valor obtenido por la escala de la gráfica se localiza el final del extremo apical, representándolo - con una línea curva que continúa con la media espira siguiente. Para completar el arco inferior de la spb es preciso establecer la distancia entre la - - unión de los pilares de un lado y del otro, proyectando cada medida en la línea horizontal correspondiente a la sección. En el gato, la spb altera su curso para formar el gancho y para representarlo es necesario identificar la - sección más basal que contiene la unión de las cabezas de los pilares y la - tangente a ellos a su nivel. Se miden las distancias, igual que anteriormente y se dibuja a continuación de la spb.

De esta forma, se obtiene una línea curva continua o cocleograma que representa la longitud de la mb, cuyo valor se determina aplicando la distancia que corresponde a un milímetro, en función de la escala usada en la - gráfica, con un compás a lo largo del trazado que se ha dibujado. Si se comienza por el extremo basal, el último valor representa la longitud de la mb. La distribución milimétrica de la cóclea tiene un gran interés, ya que permite localizar lesiones y estructuras a un nivel específico de la misma.

Con este método se determinó la longitud de cada una de las ocho cócleas, encontrando una media de $23,66 \pm 0,99$ mm. Este valor se distribuyó entre las 3 y 1/3 espiras de la cóclea del gato, obteniendo el cocleograma estándar que será utilizado en este trabajo (Fig. 2). Su utilidad radica en la necesidad de tener una base uniforme en un estudio, como el de la -

mb, donde todas las estructuras cambian en función de la distancia. Si sobre este cocleograma se traza una línea imaginaria que pase por el borde superior de la vr, cada espira se divide en dos porciones, una baja y otra alta.

4.2.6.2. Determinación de la anchura de la membrana basilar

La anchura de la mb fué valorada con la ayuda de un ocular milimetrado que se adaptó al microscopio óptico. Pero como su extensión no está totalmente aclarada, estas mediciones se realizaron desde el punto de iniciación de la cresta basilar del ligamento espiral que se fijó como límite externo, hasta la terminación medial del pilar interno, hasta el borde externo de la lámina espiral ósea y hasta el punto donde se cortan la proyección vertical de la tangente al borde medial del surco espiral interno y la prolongación del eje de la mb (Fig. 3). También, se determinó la anchura de la pp para observar los cambios que experimentaba a lo largo del cc y si éstos eran paralelos a los de la pt o bien existía alguna disociación entre ambas. Su medición se efectuó entre el límite externo de la mb y los tonofilamentos del pilar externo. Para obtener la anchura de la pt se substrajo este valor del total encontrado.

Estas determinaciones se efectuaron en cinco posiciones radiales, localizadas en aquellas secciones cuyo plano de corte pasa a través del centro de curvatura de cada media espira. En las restantes, la mb está cortada en un plano oblicuo y sus medidas no representan la anchura real de la misma (215). La situación de estos cinco puntos varía con la longitud individual de cada cóclea y como también la anchura de la mb está en función de ella, todas las posiciones de medida fueron normalizadas para una longitud cóclea media de 23,6 mm que permite comparar los datos hallados. La interpolación lineal de la anchura de la mb fué determinada mediante la obtención de la curva de regresión lineal, para cada dos posiciones consecutivas de medida (7).

Este método de microscopía óptica no permite efectuar mediciones en los extremos basal y apical de la cóclea, ya que a su nivel no se obtienen cortes radiales de la mb. Por lo tanto, sus determinaciones están limitadas a la porción de cc comprendido entre los 7 y los 21 mm, expresados como - distancia desde la vr.

4. 3. Método para estudio de la cóclea con Microscopía Electrónica de Transmisión

En 1951, Engström (46) utilizó por primera vez la microscopía - electrónica de transmisión para el estudio del oído interno. A partir de entonces su técnica ha sufrido numerosas innovaciones con el fin de mejorar la calidad de la información obtenida (99). Se ha aplicado a los animales del - grupo II y en su desarrollo se distinguen las siguientes etapas:

4. 3. 1. Fijación de la cóclea. Técnica de perfusión perilinfática

Esta etapa posee una gran importancia en cualquier estudio de microscopía electrónica de transmisión, ya que evidencia pequeñas alteraciones del metabolismo celular no visibles con microscopía óptica. Al estar el órgano de Corti alejado del sistema vascular, en lugar de la perfusión arterial que difunde el fijador lentamente a través de la pared capilar, se prefiere su contacto directo y rápido con la estructura sensorial mediante la introducción intravital del mismo en el espacio perilinfático (40, 114). Esta - técnica permite su penetración en menos de cuatro minutos, mientras que - los primeros signos autolíticos del órgano de Corti no se observan hasta - los quince después de la muerte (214). Se utilizó la solución de Karnovsky (104) de ph 7,3, que es una mezcla de paraformaldehído al 4% y de glutaraldehído al 5%.

El animal se anestesia de forma semejante a la anterior y se practica una incisión anterior e inferior, al pabellón auricular, despegando la -

piel y los tejidos blandos hasta descubrir la bulla que se abre ampliamente - para dejar expuesto el oído medio. La vr se localiza fácilmente con el microscopio Zeiss de disección mientras que la oval, por su situación postero-inferior, es muy difícil de visualizar requiriendo la eliminación de la zona ósea que lo impide. No siempre fué posible alcanzar la ventana oval a través de esta vía, ya que el hueso era muy duro y existía el peligro de producir una fractura coclear, además se había desechado la posibilidad de usar el torno por temor a originar lesiones acústicas en el órgano de Corti. En estos casos, se extirpó el pabellón auricular y a través del conducto auditivo externo, previa apertura de la membrana timpánica, se extrajeron los huesecillos dejando la ventana al descubierto.

Cuando ambas ventanas están visibles, se abre la platina, si no ha salido con el estribo y se incide la membrana de la vr, donde se coloca suavemente la punta de una pequeña pipeta. La solución de Karnovsky se bombea varias veces, cuidando de no introducir burbujas de aire, hasta que establece un amplio contacto con todas las estructuras del oído interno. La primera fijación siempre se realizó a través de la vr debido a su fácil acceso.

4.3.2. Obtención de la cóclea

La técnica de obtención de la cóclea es similar a la descrita para el temporal, pero la pieza extraída es demasiado grande, siendo necesario reducir su tamaño. Se divide en dos por su línea media, marcando el lado que corresponde a cada mitad y se eliminan todos aquellos tejidos que no pertenecen a la zona coclear. De esta forma, al final solo quedan dos pequeñas piezas conteniendo la cóclea que se colocan en solución de Karnovsky, donde permanecerán entre 12 y 24 horas, a 42°C.

Después de extraer la cóclea se abre un pequeño orificio en la región apical, bajo control microscópico, para facilitar la circulación de los

líquidos en su interior. El bombeo de la solución fijadora con la micropipeta, se repite varias veces a través de las ventanas y de esta nueva abertura.

4.3.3. Preparación de la cóclea

La técnica empleada fué descrita por Kimura (111) en un estudio experimental que realizó en el cobaya. Tiene una duración de cinco días y su ejecución precisa de una meticulosidad máxima. En este método las cócleas ya fijadas pasan, de forma sucesiva, por las siguientes fases:

4.3.3.1. Lavado

En esta etapa se eliminan los restos del fijador mediante la solución de Milloning (137), que se renueva cada diez minutos, en tres ocasiones. Después del último cambio, las cócleas permanecen en ella durante dos horas.

4.3.3.2. Segunda fijación

Se realiza con tetraóxido de osmio al 1 % en buffer de Milloning - durante tres horas, a 40 C. Antes de guardar las piezas en el frigorífico, la solución fijadora se bombea varias veces a través de las ventanas y del orificio apical.

El osmio es un buen fijador, aunque más lento que los aldehídos. Tiene la ventaja de teñir de negro las partes blandas de la cóclea facilitando su reconocimiento, sin embargo, posee una gran toxicidad tanto por la vía respiratoria como por la cutánea.

4.3.3.3. Lavado y Deshidratación

El osmio se elimina de las estructuras cocleares mediante tres -

cambios, de diez minutos cada uno, en la solución de Millonig. A continuación las piezas van pasando a través de una serie de etanoles de concentración creciente, para terminar en óxido de propileno. Durante su permanencia en etanol al 70% se realiza, con control microscópico, una completa exéresis de toda la parte ósea y tejidos blandos innecesarios. Conviene ampliar el orificio apical y abrir la porción basal ascendente, conservando el ligamento espiral. Los restos membranosos de la vr son extirpados, cuidando de no lesionar mecánicamente el extremo basal del cc.

4.3.3.4. Inclusión

El medio de inclusión utilizado fué el Epon 812 (129), poniendo la cóclea completa sin fragmentar en contacto con él (198). A la temperatura ambiente, los especímenes están inmersos e infiltrados por una mezcla de los componentes fluidos de la resina, que se polimeriza y endurece a temperaturas más altas. Esta circunstancia permite obtener secciones muy finas de la cóclea.

4.3.4. Fragmentación de la cóclea y obtención de las secciones

La microscopía electrónica de transmisión, a diferencia de la óptica, no permite cortar la cóclea en un solo bloque. Hay que obtener pequeñas piezas de la misma, máximo de 1 mm, que se orientan y seccionan en función de la estructura que se va a analizar. En esta etapa se distinguen tres fases: la obtención y localización de las piezas, su montaje y la sección de las mismas.

4.3.4.1. Obtención y localización de las piezas

La cóclea incluida en Epon se halla dentro de una cápsula de gelatina, que por transparencia permite visualizar las distintas estructuras de la misma. Su bidisección se efectuó, bajo control microscópico, en el plano

modiolar perpendicularmente al punto que coincidía con el milímetro 5 de una pequeña regla colocada sobre el comienzo de la mb en la vr y el punto medio del promontorio. Con una sierra de relojero se inicia el corte procurando profundizar por igual a todos los niveles. Se pasa a través del Epon y de la cápsula ótica, hasta que se visualiza una transparencia negruzca indicando la proximidad del ligamento espiral. Cuando esta zona oscura se observa a todo lo largo de la línea marcada, se cambia la posición de la pieza y se completa la porción inferior del plano de sección. Una vez terminado éste, con un golpe seco de martillo sobre una cuchilla fuerte, se obtiene un corte limpio a través de la cóclea.

Cada mitad coclear fue estudiada cuidadosamente para determinar la localización del plano de sección, cuyo límite inferior se situó a nivel del milímetro 5. Los datos obtenidos se reseñaron en el cocleograma estándar del gato, expresando la distribución milimétrica de su cc como distancia desde la vr. Las tres medias espiras de cada lado se separaron con una cuchilla fina, teniendo especial cuidado de no confundir la posición de sus extremos basal y apical. La vr localizada en una de las mitades, se obtuvo como pieza independiente con los primeros 2,5 mm de la mb. De esta forma, la cóclea se dividió en siete fragmentos: seis medias espiras y la zona de la ventana, conociéndose su precisa situación a lo largo del cc.

Estas medias espiras se dividieron en piezas de 0,5 ó de 1 mm y cada una recibió un signo diferente, para indicar su posición en el cocleograma. Se ha estimado que la máxima desviación posible en la determinación de su localización, puede alcanzar ± 1 mm.

4.3.4.2. Selección y montaje de las piezas

Todas las piezas obtenidas, previa eliminación de su cápsula ótica, se montaron para no perder su posición, sin embargo solo unas pocas

se seccionaron y examinaron con el microscopio electrónico de transmisión. En cada una de las seis cócleas se seleccionaron dos piezas por espira, una situada en su porción baja y otra en la alta, cuyo estudio se realizó mediante secciones radiales. En dos de las cócleas se tomó otra pieza más por espira, para obtener cortes seriados longitudinales desde la cresta basilar del ligamento espiral hasta el labio timpánico del limbo espiral. En tres cócleas, sus primeros 2,5 mm correspondientes a la zona de la vr, se dividieron en cinco fragmentos que se seccionaron radialmente.

Cada pieza se examinó con el microscopio de disección visualizando muy bien las distintas estructuras, debido a su tinción con el osmio y a la transparencia del medio de inclusión. Así pues, no fue difícil regularizar sus bordes, eliminando las porciones de Epon innecesarias y la mayor parte de la zona modiolar. De esta forma, se obtiene un pequeño bloque rectangular con seis caras, que corresponden al ligamento espiral, a la lámina espiral ósea, a la rampa timpánica, a la rampa vestibular y al corte radial del órgano de Corti que aparece en ambos extremos, basal y apical, de la pieza.

Pequeñas cápsulas de gelatina del nº 2 conteniendo mezcla de Epon ya polimerizada se utilizaron como soporte de los bloques, cuya orientación dependía del plano de sección. Las radiales se colocaron con la cara que mostraba el órgano de Corti apical en contacto con la cápsula; mientras que para las secciones longitudinales, esta cara correspondía a la lámina espiral ósea.

4.3.4.3. Sección de las piezas

Las secciones se obtuvieron con un ultramicrotomo LKB, previo tallado de la pieza en una especie de pirámide cuya superficie definitiva debía ser trapezoide. Con esta finalidad se realizan dos cortes que forman con la perpendicular al punto medio del cc, unos ángulos de 50 y 120° respecti-

vamente. De este modo en su cara apical queda incluido un ángulo diedro, cuyos planos tienen una diferente inclinación en relación con la vertical. Además para conseguir un distinto espesor de los mismos y a la vez eliminar resina de las partes laterales del bloque, se efectúan otros dos cortes con un ángulo de 30° en dirección a la pared menos abrupta de la pirámide.

La orientación de la pieza en el ultramicrotomo varía en función del tipo de secciones que se vayan a realizar. El plano de corte en las radiales es paralelo al eje mayor de las células ciliadas externas y por lo tanto perpendicular al del cc; mientras que en las longitudinales se corresponde con dicho eje, siendo perpendicular al transversal de la mb. El ángulo de corte se comprueba mediante secciones de 2 µm de grosor que se examinan con el microscopio de fase y así determinar los ajustes necesarios para lograr el plano correcto. Se exigió que aparecieran las tres células ciliadas externas en toda su extensión cuando se trataba de secciones radiales y que presentaran un tipo celular uniforme en el caso de las longitudinales.

Una vez orientada la pieza se obtuvieron secciones de unos 400 Å aproximadamente. Su corte se realiza de forma automática en el ultramicrotomo, utilizando un cuchillo de diamante (W.R.) de 2,5 mm de longitud. Las secciones forman en la superficie líquida una hilera nacarada claramente visible con los oculares, lo que facilita su recogida. En el sistema colector se fijan unas pinzas de relojero cuyo extremo sostiene una rejilla de cobre con un agujero único cubierto por una película de Formvar, donde se montan las secciones. Esta rejilla se guarda para su estudio posterior, indicando la pieza de origen. Su película es muy frágil y con frecuencia presenta roturas puntiformes, dobleces, o partículas de suciedad, que dificultan grandemente el examen de las secciones con el microscopio electrónico de transmisión, por lo que es conveniente comprobar su estado antes de usarla.

Las piezas correspondientes a la zona de la vr no se pudieron cor

tar con la técnica descrita, ya que en este área, la lámina espiral ósea se - extiende hasta el túnel de Corti y su eliminación conlleva la desaparición de gran parte del pilar interno, utilizado como referencia medial en las medidas de la mb. Al no poder superar este problema, se prefirió realizar secciones de 2 µm de grosor que permitían conservarlo y efectuar el estudio con microscopía de contraste de fase.

4.3.5. Tinción de las secciones y Técnicas complementarias

Las secciones se tiñeron en dos tiempos independientes y consecutivos con acetato de uranilo y con citrato de plomo (169). Esta asociación - acentúa el contraste de los elementos estructurales, facilitando el examen - microscópico de los mismos.

Las fotografías se tomaron con un Siemens Elmiskop I: A) De todas aquellas zonas de interés variando los aumentos entre 1.000 y 40.000 X en función de la estructura. B) Seriadas a lo ancho de la mb con 2.500 X en las secciones radiales. C) De cuatro áreas con 8.000, 15.000 y 30.000 X en cada una de las secciones longitudinales, cuya situación se identificó a lo largo de la serie y en todos los cortes también se efectuaron 4 ó 5 seriadas con 2.500 X. Como negativos se emplearon placas de cristal Kodak para microscopía electrónica que se numeraron inmediatamente después de sacarlas de la cámara fotográfica, con un marcador EFFA 1662.

Las fotografías se obtuvieron proyectando el negativo sobre un papel Kodak desde una ampliadora, previa determinación del foco, densidad media de la imagen, luz y tiempo de exposición. En cada una de ellas se indicó el número del animal, la pieza de origen, los aumentos del negativo y los que tenía realmente, ya que al utilizar la ampliadora éstos experimentan una variación desconocida. Su valor real se estableció aplicando la regla siguiente: Aumentos del negativo · Medida sobre la fotografía / Medida sobre el negativo.

Las fotograffas seriadas se fijaron con papel adhesivo a nivel de - puntos comunes, cuya superposición mostraba una continuidad estructural. - Aquellas procedentes de las secciones radiales se montaron de tal forma que la mb aparecía totalmente reconstruida, desde su límite externo al interno. - Las 4 ó 5 obtenidas en cada una de las secciones longitudinales también se - unieron, reproduciendo la zona de estudio. Las restantes se clasificaron en función del corte realizado, de la pieza a la que pertenecían y de la estructu - ra que representaban, con lo que el material ya está listo para su estudio.

4.3.6. Método de obtención y análisis de datos

Las 36 membranas basilares radialmente reconstruidas sirvieron para determinar su anchura, grosor y número de células timpánicas a seis - niveles distintos en cada una de las cócleas. Las fotograffas procedentes - de las secciones seriadas longitudinales se utilizaron para estudiar cuantita - tivamente los filamentos a lo ancho de la mb en las tres espiras de la cóclea. El gran poder de resolución de la microscopía electrónica de transmisión - permitió realizar un análisis de las características submicroscópicas de sus elementos constituyentes en todo el material obtenido. El tamaño real de las estructuras que aparecían en las fotograffas se estableció mediante la si - - gulente regla: Medida en la fotograffa en mm $\cdot 1.000 \mu\text{m} \cdot 10.000 \frac{\text{\AA}}{\text{Aumen-}}$ tos totales.

4.3.6.1. Determinación de la anchura de la membrana basilar

La anchura total de la mb se midió con una regla milimetrada, des - de su punto de iniciación en la cresta basilar del ligamento espiral hasta la terminación medial del pilar interno. De la misma forma se determinó la dis - tancia correspondiente a la pp, comprendida entre el límite externo de la mb y la porción más lateral de los tonofilamentos del pilar externo. Al subs - - traer este valor del total indirectamente se obtiene la anchura de la pt.

Estas mediciones se efectuaron entre los 3 y 23 mm de distancia - desde la base, a distintos niveles del cc cuya localización se reseñó en el co cleograma estándar. La interpolación lineal de la anchura de la mb se determinó mediante la obtención de la curva de regresión lineal, para cada dos po siciones consecutivas de medida (7).

4.3.6.2. Determinación del grosor de la membrana basilar

El grosor de la mb está constituido por la substancia fundamental que engloba los filamentos y por la capa de células timpánicas. Los límites de la primera están relativamente bien definidos, mientras que en la segunda las células presentan una disposición muy irregular, pudiéndose introducir grandes errores en función de la zona medida. Este problema, sin embargo, se soslayó con el trazado de una curva que, bordeando inferiormente a la ma yor parte de los elementos celulares, se ajustaba a la forma general de este área.

Ambas mediciones se realizaron en el mismo plano perpendicular, desde la lámina o membrana basal hasta la superficie timpánica de la substan cia fundamental y desde este nivel al punto correspondiente de la línea trazada para delimitar el área de las células timpánicas. Unos 30 puntos diferentes se determinaron a lo ancho de la mb, obteniendo una media de 10 pa ra efectuar la reconstrucción gráfica de este parámetro.

4.3.6.3. Determinación del número de células timpánicas

El número de células timpánicas se cuantificó contando los núcleos que aparecían en la zona situada por debajo de la substancia fundamental. En dos ocasiones se observaron macrófagos en dicha área y aunque es muy probable que sean el resultado de una transformación celular, no se incluyeron en el total. También se obtuvo la proporción existente entre la anchura de la

mb y el número de células timpánicas en los distintos niveles de la cóclea.

4.3.6.4. Estudio cuantitativo de los filamentos

Las secciones longitudinales de la mb fueron fotografiadas empleando aumentos progresivamente mayores, 8.000, 15.000 y 30.000 X, a nivel de cuatro áreas que se identificaron a lo largo de la serie. En todos estos cortes, efectuados desde la cresta basilar del ligamento espiral hasta el labio timpánico del limbo espiral, también se obtuvieron 4 ó 5 seriadas para reconstruir la zona de estudio. Todo este material permitió determinar, en cada una de las secciones, la densidad de los filamentos en los haces, $F/\mu m^2$, y su número en función de la longitud, $F/\mu m$, consiguiendo una valoración sistemática de los mismos, tanto en el plano radial como en el longitudinal del cc.

La densidad, $F/\mu m^2$, se estableció contando el número de filamentos contenidos por cm^2 en los haces. Para su estimación se utilizaron las fotografías de 15.000 y 30.000 X, hallando la media de los valores encontrados en cada sección.

El número de filamentos por unidad de longitud de la mb, $F/\mu m$, se determinó en las fotografías de 2.500 y 8.000 X, donde se midió el área ocupada por los filamentos con un planímetro polar de compensación, que recorrió fielmente con su brazo móvil los límites irregulares de la zona filamentosa para volver al punto exacto de partida. Esta medición se realizó en todos y en cada uno de los haces filamentosos presentes en la porción reconstruida de la mb y su suma correspondía al área buscada. Al multiplicar esta superficie por la densidad de los filamentos en los haces, se obtuvo el número total de éstos en dicha zona, cuya longitud se determinó con una regla milimetrada. Con estos datos ya se pudo establecer la proporción número de filamentos/ μm de longitud en cada una de las secciones y al igual que an-

teriormente también se halló la media de los valores alcanzados.

A pesar de que se identificaron cuatro áreas a lo largo de toda la serie de cortes, no fué posible seguir un mismo filamento a través de la mb, debido a su pequeño tamaño y a la gran semejanza que presentan entre ellos.

4.3.6.5. Estudio cualitativo de la membrana basilar

Las características estructurales de los distintos elementos que forman la mb, substancia fundamental, filamentos y células timpánicas, se establecieron mediante el análisis sistemático de todo el material anterior y de otras muchas fotografías obtenidas en zonas de interés con aumentos variables. Esta información condujo a un amplio conocimiento de su morfología en los distintos niveles de la cóclea.

La lámina o membrana basal, a pesar de no ser un elemento constituyente de la mb, también fué objeto de estudio. Además de analizar cualitativamente esta estructura, se realizaron mediciones de su grosor y de la distancia que la separa de la membrana plasmática de las células epiteliales por un lado, y de la substancia fundamental, por el otro. Estas determinaciones se efectuaron en varios puntos a través del órgano de Corti y en diferentes zonas a lo largo del cc.

4.4. Método para estudio de la cóclea con Microscopía de Contraste de Fase

La técnica de preparación de superficie, basada en la disección de la cóclea obteniendo pequeños fragmentos para su análisis, fué ya usada por Retzius en 1884 (168). Sin embargo, su incorporación sistemática a los métodos de estudio del oído interno no se efectuó hasta que Neubert (143), Beck y Michler (16) y Engström y cols. (51, 52), establecieron las normas generales para su empleo con microscopía de contraste de fase. De nuevo, Bohre

(23) la ha modificado incluyendo la cóclea previamente a su disección, lo que no impide realizar un examen de superficie con una resolución similar a la conseguida con las técnicas anteriores; pero en cambio, permite la obtención posterior de secciones en cualquier zona, cuyo análisis microscópico completará la información alcanzada.

Esta técnica de Bohne, alterada ligeramente en los períodos de fijación y procesamiento se ha aplicado a los cinco animales del grupo III. Su duración fué de diez días, distribuidos en las siguientes etapas:

4.4.1. Fijación, Obtención y Preparación de la cóclea

Los animales se perfundieron por vía arterial con solución de Karnovsky (104). Las cócleas se obtuvieron y procesaron con el mismo método empleado en el estudio de microscopía electrónica de transmisión.

4.4.2. Fragmentación de la cóclea y montaje de las piezas

A diferencia de las técnicas anteriores, la cóclea se divide en pequeños fragmentos que no se cortan en finas secciones sino que se montan sobre un soporte rígido para su estudio.

4.4.2.1. Fragmentación de la cóclea

La cápsula de gelatina conteniendo la cóclea incluida en Epon, se fija en el mecanismo de soporte del ultramicrotomo, cuyos oculares permiten controlar todas las maniobras efectuadas a su nivel. La resina se elimina dejando al descubierto la cápsula ótica, que se fresa hasta las proximidades de las partes blandas, extrayendo con un punzón los restos óseos. De esta forma se libera el cc y las rampas perilinfáticas en un solo bloque que está relleno y rodeado de Epon.

Las medias espiras se separan del cc mediante un corte a nivel del modíolo, perpendicular a la mb y otro paralelo a esta estructura, a través - de la rampa timpánica de esa media espira que se une con el anterior. Este proceso de fragmentación coclear se comienza por la región apical y para - su ejecución se utilizan pequeñas cuchillas muy finas y afiladas. La pieza se extrae con unas pinzas colocándola sobre un portaobjetos con Epon y para - no confundir sus extremos siempre se mantiene la misma posición para cada uno de ellos (izquierda: apical y derecha: basal).

4.4.2.2. Montaje de las piezas

Las medias espiras se dividen en piezas más pequeñas, cuyo grosor se reduce al eliminar gran parte de la resina de los espacios perilinfáticos. En la rampa timpánica se efectúa un corte muy próximo a la mb, manteniendo un estricto paralelismo con su eje radial para evitar que aparezcan inclinaciones en el bloque. En la rampa vestibular se realiza otro similar, - aunque a cierta distancia del órgano de Corti y procurando conseguir una su superficie homogénea que permita analizar las estructuras subyacentes.

Cada uno de los fragmentos cocleares se coloca con su cara timpánica apoyada sobre un portaobjetos, al que se fija mediante una delgada capa de Epon. Estos bloques, ya montados, están listos para su examen microscópico sin precisar de una tinción ulterior, puesto que el osmio aportó a sus estructuras una coloración negruzca cuyas distintas tonalidades permiten - distinguirlas con cierta claridad. De cada una de las cinco cócleas se obtuvo, de esta forma, una colección de 16 a 20 piezas seriadas para su estudio con el microscopio de fase.

4.4.3. Obtención de las secciones

En una de las cócleas se seleccionaron varias piezas para realizar secciones estrictamente radiales de 2 μ m de grosor, cuyo análisis per-

mitió comprobar algunos de los resultados del estudio anterior. El bloque se separa del portaobjetos introduciendo una cuchilla fina entre ambos y ejerciendo la misma presión a todos los niveles, pues lo contrario podría conducir a su fractura. Una vez liberado se eliminan los restos de Epon y se divide en fragmentos de 1 mm aproximadamente, que se montan sobre cápsulas de gelatina del nº 2. Posteriormente, con el ultramicrotomo se obtienen secciones gruesas en el plano perpendicular a la unión de las cabezas de los pilares, que se montan sobre un portaobjetos para su examen microscópico.

4.4.4. Método de obtención y análisis de datos

Estas cinco cócleas se utilizaron para medir la anchura de la mb y en dos de ellas se determinó el ángulo que forma el plano del eje mayor de las tres células ciliadas externas con el radial de dicha estructura membranosa. En ambos estudios se empleó la cámara lúcida cuyo sistema óptico, especialmente adaptado al microscopio, permite la proyección de la sección examinada sobre un papel colocado en la mesa. De esta forma, se consiguen dibujos de las distintas estructuras con características idénticas a las que poseen en los cortes, cuya valoración es posterior y está en función de los aumentos usados. Este método de análisis tiene un gran valor cuando se efectúan mediciones en las preparaciones de superficie, debido a la precisión con que se pueden fijar los límites y la dirección del plano considerado.

La microscopía de contraste de fase también se utilizó para determinar la anchura de la mb en las secciones radiales procedentes de la zona de la vr y de los primeros 2,5 mm del cc. Estas determinaciones se realizaron adaptando al microscopio un ocular milimetrado.

4.4.4.1. Determinación del ángulo de las células ciliadas externas con el eje radial de la membrana basilar

En cada una de las piezas se escogió un punto y a su nivel se di -

bujó una línea perpendicular a la que marca la unión de las cabezas de los pilares, identificándola con el eje radial de la mb y otra a través del plano de las tres células ciliadas externas más próximas, obteniendo de esta forma un pequeño triángulo rectángulo (Fig. 4). Se midió el ángulo comprendido entre ambos trazos, cuyo coseno permitió establecer una relación entre ellos. ($\text{Coseno} = \text{eje radial de la mb} / \text{plano de las células ciliadas externas}$). Este valor indica cuantitativamente la corrección a realizar en aquellas mediciones radiales definidas en función de dicho parámetro celular.

La localización de los puntos de medida se estableció determinando la longitud parcial de cada pieza, cuya suma representa la total de la cóclea. La primera se obtiene trazando una curva que pasa por la unión de las cabezas de los pilares y su valoración se efectúa mediante una unidad métrica calibrada. De forma similar se mide la distancia que separa su situación a lo largo de la cóclea. Estas posiciones se normalizaron para una longitud estándar de 23,6 mm y se expresaron en función del porcentaje de la total.

4. 4. 4. 2. Determinación de la anchura de la membrana basilar en las preparaciones de superficie

Al igual que anteriormente, en cada una de las piezas se seleccionó un punto donde se trazó una línea perpendicular a la zona de unión de las cabezas de los pilares, que corresponde al plano del eje radial de la mb, marcando sobre ella los límites externo e interno de dicha estructura. Para la valoración de esta distancia, así como para evitar modificaciones en la calibración del microscopio, se construye una regla control proyectando una sección milimetrada a los mismos aumentos que se van a utilizar durante todo el estudio. De esta forma, se obtuvo la anchura de la mb en una o dos áreas de cada bloque, comenzando siempre por el número uno donde se encuentra la zona de la vr. La posición de los puntos de medida se determina con el método descrito previamente.

El límite interno de la mb se fijó a nivel de la terminación medial del pilar interno y se reconoce fácilmente por formar el borde externo de una zona clara, que representa el área de la habenula perforata. Como límite externo se marcó el punto de unión de la membrana con la cresta basilar del ligamento espiral pero, a diferencia del anterior, su precisa localización no se visualiza fácilmente con esta técnica de superficie debido a la superposición estructural. Para clarificar su situación se obtuvieron secciones estrictamente radiales en algunas de las piezas procedentes de una cóclea, que permitieron efectuar distintas mediciones a lo ancho de la mb con la cámara lúcida. Este análisis, combinado con el realizado en los bloques, condujo a establecer la siguiente sistemática que define la posición de dicho límite externo a lo largo del cc en las preparaciones de superficie:

- A) En la spb baja, entre las células de Boettcher y el ligamento espiral aparece una zona de color marrón que corresponde a la superposición de la cresta basilar, del epitelio de revestimiento de las rampas timpánica y vestibular, de la lámina espiral ósea secundaria y del tejido fibroso del ligamento espiral. El punto de referencia se localiza, inmediatamente por fuera de las células de Boettcher, en el límite entre dicha área marrón y una banda ligeramente más clara formada por las células de Claudius.
- B) La prominencia espiral aumenta progresivamente de tamaño, cubriendo también la cresta basilar en la spb alta. Pero a pesar de su densidad deja transparentar la banda clara de las células de Claudius, cuya línea de demarcación con la zona oscura del ligamento espiral representa el punto buscado.
- C) Este límite se visualiza con dificultad en la spm, por disminuir marcadamente el ángulo formado entre la mb y el ligamento espiral. La estría vascular experimenta un desplazamiento medial situándose por

encima de las demás estructuras que se superponen a la cresta basilar. A su nivel se observa una zona negra muy densa que no permite distinguir con facilidad la banda clara celular, cuya localización precisa de una buena iluminación y del estudio cuidadoso de los bordes basal y apical de la pieza hasta definir su línea de separación con el ligamento espiral. En una cóclea se obtuvieron secciones radiales, de todos los bloques correspondientes a este área para comprobar las mediciones realizadas y sus resultados aportaron una diferencia de $\pm 10 \mu\text{m}$ entre ambas determinaciones.

- D) La posición del ligamento espiral es cada vez más perpendicular a la mb, a medida que se aproxima a la spa, con lo que su límite se distingue con claridad. Siempre corresponde a la línea más externa, ya que la medial representa la porción basal de las células del surco externo.

4.4.4.3. Determinación de la anchura de la membrana basilar en la zona de la ventana redonda

En tres cócleas se dividió la pieza que contenía la zona de la vr con los primeros 2,5 mm del cc en cinco fragmentos para obtener secciones radiales que se estudiarían con el microscopio electrónico. La imposibilidad de eliminar la lámina espiral ósea sin que al mismo tiempo desapareciera el pilar interno, localizado sobre ella, originó que este análisis se llevara a cabo con microscopía de contraste de fase. Las secciones se cortaron con un grosor de $2 \mu\text{m}$ en el plano paralelo al eje mayor de las células ciliadas externas.

La anchura de la mb se determinó mediante un ocular milimetrado que se adaptó al microscopio. Su límite externo se fijó en la zona de unión de la membrana con la cresta basilar del ligamento espiral y el interno a ni

vel de la terminación medial del pilar interno. Como punto intermedio se tomó la terminación lateral de los tonofilamentos del pilar externo, cuya distancia hasta la cresta basilar correspondía a la anchura de la pp. La posición de los puntos de medida se obtuvo directamente del cocleograma estándar, - donde se habían marcado con anterioridad.

V. RESULTADOS

V. RESULTADOS

5. 0. Introducción

Los resultados de este estudio morfológico de la mb del gato se han clasificado en función de su relación con los aspectos ultraestructurales, con la anchura o con el grosor de la misma, por lo tanto se agruparon en tres grandes apartados:

5. 1. Comprende la descripción sistemática de las características cualitativas de los elementos que la constituyen (células timpánicas, sustancia fundamental y porción filamentosa) y de su cuantificación, tanto en el plano radial como en el longitudinal del cc. También incluye toda la información procedente de la lámina o membrana basal.

5. 2. Constituye la exposición de los datos obtenidos al medir con cada una de las técnicas utilizadas, la anchura total de la mb, de la pt y de la pp en los distintos niveles de la cóclea. Finalmente, se efectúa un análisis global de estos resultados.

5. 3. Muestra las variaciones cuantitativas que experimenta el grosor de la mb en el plano radial y en el longitudinal del cc.

5. 1. Ultraestructura de la membrana basilar y de la lámina o membrana basal

La mb está situada inmediatamente por debajo del órgano de Corti, subrayándole radialmente desde el labio timpánico del limbo espiral hasta la cresta basilar del ligamento espiral. Entre ambas estructuras existe una lámina o membrana basal que las separa, asegurando su independencia morfológica.

La microscopía óptica ha permitido reconocer la existencia de dos zonas estructuralmente diferentes a lo ancho de la mb, una medial muy estrecha (pt) y otra lateral más gruesa (pp), cuya demarcación se localiza a la altura del pilar externo (Figs. 1 y 3). Con el microscopio electrónico de transmisión se precisó dicho límite a nivel de la terminación más lateral de los tonofilamentos (Fig. 5), observando además que estas dos porciones membranas difieren fundamentalmente en la distinta distribución radial de sus elementos constituyentes (Figs. 6 y 7).

5.1.1. Elementos estructurales de la membrana basilar

La mb del gato está formada principalmente por tres elementos básicos: las células timpánicas, la sustancia fundamental y la porción filamentososa.

5.1.1.1. Las células timpánicas

Las células timpánicas se disponen longitudinalmente sobre la superficie libre de la sustancia fundamental (Fig. 8). Tienen un cuerpo ovalado o fusiforme, que está ocupado por el núcleo casi en su totalidad y una larga prolongación delgada en cada uno de sus extremos. El nucleoplasma ofrece un aspecto finamente granular condensándose parcialmente en la periferia, cerca de la envoltura nuclear (heterocromatina). El citoplasma se localiza, en su mayor parte, a lo largo de las prolongaciones y contiene algunas mitocondrias, un pequeño aparato de Golgi, vesículas con sustancia difusa, numerosos filamentos y microtúbulos y un retículo endoplásmico bien desarrollado (Fig. 9). Con relativa frecuencia, se visualizó también la presencia de vesículas de pinocitosis (Fig. 10).

Solamente algunas células timpánicas establecen contacto con la sustancia fundamental, observando que en dicha zona, a veces, aparece una

diferenciación funcional en la superficie de su membrana plasmática (Fig. 10). Esta unión celular parece corresponder a un hemidesmosoma, aunque a diferencia de los típicos descritos entre las células epiteliales y el tejido conectivo (211, 107), a su nivel no se interpone una lámina basal ya que se originan al contactar directamente las células timpánicas con la sustancia fundamental. Su forma de presentación más frecuente se caracteriza por la aparición de una densidad citoplásmica difusa a lo largo de la membrana, de donde salen perpendicularmente unos filamentos muy finos que se dirigen hacia el interior de la célula (Fig. 11). Por el contrario, la sustancia fundamental no adopta una disposición especial en este área, presentando una estructura similar a la de sus zonas vecinas.

Las células timpánicas contactan con frecuencia entre sí apareciendo, ocasionalmente, en ambas membranas plasmáticas una diferenciación de superficie que no se pudo incluir en ninguna de las clasificaciones conocidas hasta el momento actual (Figs. 9B y 10). Estas uniones celulares especializadas son parecidas a los desmosomas (211, 107), sin que alcancen una total identificación con ellos. Por un lado, poseen la mayor parte de sus características: condensación sobre la superficie citoplásmica de la membrana, filamentos convergentes a su nivel, dos membranas plasmáticas paralelas y depósito de un material denso en el espacio intercelular (Figs. 12 y 13). Sin embargo, por otro lado se comprueba que la distancia existente entre las dos hojas externas de la membrana es menor de 100 Å, a diferencia de los 250-350 Å que caracterizan al desmosoma clásico. En ningún caso se observó la presencia de uniones comunicantes, o en hendidura, entre los elementos celulares de la mb.

El área ocupada por las células timpánicas varía de forma significativa tanto en el plano radial como en el longitudinal del cc (Fig. 14). Se estableció que existe un aumento notable de la misma entre la región basal y la spm, localizándose su máximo grosor al comienzo de la parte alta de ésta

última ($17,18 \pm 1$ mm). Una vez sobrepasado este punto, disminuye moderadamente en un principio y bruscamente después, a nivel del extremo apical de la cóclea (Tabla I). En la spb, dicha área tiene un espesor menor de $1 \mu\text{m}$ estando formada por los núcleos y las prolongaciones de las células timpánicas, cuyos bordes se superponen para constituir un estrato único que se localiza muy próximo a la substancia fundamental adyacente (Fig. 15A). Este aspecto compacto desaparece paulatinamente a medida que su posición en la cóclea se aleja más de la vr. Así, en la spm alta aparecen tres o más capas de núcleos celulares rodeados de numerosísimas prolongaciones que se encuentran bañadas en líquido perilinfático por existir abundantes espacios entre ellas (Fig. 15B); el área que ocupan ha experimentado un aumento marcado, habiéndose obtenido en algunas zonas un incremento de 117 veces en relación con el mínimo anterior. Aunque esta superficie disminuye cuantitativamente a partir de este punto, mantiene sin embargo, la libre disposición de sus elementos celulares hasta el extremo apical de la cóclea (Fig. 16).

La disposición de las células timpánicas en el plano radial de la mb es muy irregular, pero resulta evidente que el área ocupada por ellas es mucho mayor en la pp que en la pt (Fig. 14 y Tabla I). Su máximo grosor se localizó a la altura del pilar externo, aproximadamente a nivel de la zona de transición entre ambas porciones membranosas, siguiéndole de cerca la región de las células de Delors y la situada entre el tercio medio y externo de la pp. En cambio el mínimo se encontró unas veces en el área del vaso espiral y otras en el de la cresta basilar. Tanto en la pt como en la pp se mantiene el patrón de distribución longitudinal anteriormente descrito.

Las Tablas II y III muestran el número total de células timpánicas obtenido a lo ancho de la mb en los animales adultos y jóvenes respectivamente. Los datos correspondientes a cada uno de ellos se representaron mediante una línea curva que indica las modificaciones cuantitativas experimentadas por dichos elementos estructurales a lo largo del cc (Fig. 17). En esta grá-

fica se observa que el número de células timpánicas presenta amplias variaciones individuales y aumenta irregularmente desde la spb baja, donde se lo caliza el mínimo, hasta las zonas más altas de la cóclea a cuyo nivel existe una gran dispersión de los resultados. En los animales adultos, el máximo - número celular se encontró a la altura de la spm alta decreciendo en la re - gión apical; por el contrario, en los jóvenes se situó en esta última zona sin que se apreciaran disminuciones ulteriores del mismo. Esta diferencia po - dría explicarse no sólo en función del factor edad, sino también, porque las piezas seleccionadas en los gatos jóvenes no estuvieran lo suficientemente - próximas al extremo apical (21, 20,5 y 20,5 mm), como para expresar su al - teración. En cambio, las procedentes de los adultos al poseer una localiza - ción más cercana a este área permitieron alcanzar una información más pre - cisa sobre sus modificaciones (23, 22,5 y 22,5 mm). Sin embargo, es indu - dable que los valores obtenidos en la región apical de los animales más vie - jos son cuantitativamente inferiores a los del grupo de menor edad.

La relación que existe entre la anchura de la mb y los datos de las Tablas II y III en cada una de las posiciones de medida, se ilustra en la Fig. 18. Cuya gráfica muestra que esta proporción decrece progresivamente des - de la spb a la spa, donde de nuevo aparece una discrepancia entre los resul - tados de los dos grupos de animales expresando la diferencia cuantitativa ce - lular encontrada en dicha zona. Este hecho origina que las curvas correspon - dientes a los gatos adultos presenten un discreto ascenso a su nivel, mien - tras las de los jóvenes mantienen unos valores más bajos. Al analizar todos estos datos se aprecia que el número de células timpánicas aumenta más in - tensamente que la anchura de la mb a lo largo de la cóclea.

TABLA I

GROSOR MEDIO DEL AREA OCUPADA POR LAS CELULAS TIMPANICAS

Localización	PARS TECTA			PARS PECTINATA		
	Pilar Interno	Area Vaso Espiral	Pilar Externo	Células Delters	Transición entre el tercio medio y externo	Cresta Basilar
mm	μm	μm	μm	μm	μm	μm
3,00- 4,00	$0,27 \pm 0,04$	$0,49 \pm 0,10$	$0,15 \pm 0,14$	$0,39 \pm 0,10$	$0,75 \pm 0,05$	$0,49 \pm 0,00$
8,00- 9,00	$0,61 \pm 0,40$	$0,35 \pm 0,10$	$1,84 \pm 1,60$	$2,73 \pm 2,30$	$1,54 \pm 0,70$	$1,91 \pm 0,90$
13,00-14,00	$6,76 \pm 1,13$	$1,87 \pm 0,70$	$12,79 \pm 1,40$	$9,94 \pm 2,06$	$11,18 \pm 2,30$	$3,74 \pm 0,70$
16,00-17,00	$11,47 \pm 1,90$	$6,08 \pm 1,80$	$17,54 \pm 0,30$	$16,72 \pm 0,20$	$13,97 \pm 0,30$	$2,16 \pm 0,20$
18,00-19,00	$7,95 \pm 0,55$	$5,44 \pm 0,70$	$16,61 \pm 2,90$	$11,87 \pm 2,50$	$12,77 \pm 3,40$	$3,42 \pm 0,60$
20,00-21,00	$8,40 \pm 1,60$	$2,17 \pm 0,50$	$13,12 \pm 3,40$	$10,43 \pm 2,30$	$13,02 \pm 0,70$	$3,54 \pm 0,50$
22,50-23,60	$7,79 \pm 1,30$	$6,46 \pm 1,60$	$5,40 \pm 1,20$	$5,12 \pm 0,30$	$8,09 \pm 1,57$	$0,77 \pm 0,90$

TABLA II

NUMERO TOTAL DE CELULAS TIMPANICAS EN EL PLANO RADIAL DE LA MEMBRANA BASILAR

ANIMALES ADULTOS

<u>Gato 972</u>		<u>Gato 962</u>		<u>Gato 963</u>	
Localización mm	Número de Células	Localización mm	Número de Células	Localización mm	Número de Células
6,00	4	7,00	8	5,50	8
13,50	14	10,50	12	9,00	10
18,00	21	14,00	15	12,50	17
19,00	31	17,00	19	17,00	21
22,00	28	21,00	25	18,50	22
23,00	24	23,00	20	22,50	16

TABLA III

NUMERO TOTAL DE CELULAS TIMPANICAS EN EL PLANO RADIAL DE LA MEMBRANA BASILAR

ANIMALES JOVENES

<u>Gato 991</u>		<u>Gato 1007</u>		<u>Gato 908</u>	
Localización mm	Número de Células	Localización mm	Número de Células	Localización mm	Número de Células
3, 50	1	5, 50	7	3, 25	5
8, 50	4	9, 50	6	9, 00	12
9, 50	7	12, 00	18	12, 00	13
17, 00	23	17, 00	16	13, 50	17
19, 50	25	19, 00	21	18, 50	29
21, 00	32	20, 50	23	20, 50	31

5.1.1.2. La substancia fundamental

La substancia fundamental contiene los filamentos de la mb y se - extiende desde la lámina o membrana basal hasta la zona de las células timpánicas (Figs. 5, 6, 7 y 8). Tiene un aspecto filamentososo o finamente granular (Figs. 11 y 19) y, a menudo, presenta una especie de conglomerados oscuros, de similar estructura a la descrita, pero con una densidad mucho mayor en las proximidades de los elementos celulares (Figs. 19B y 20). Estas masas densas se encuentran con mucha frecuencia en la spb aunque pueden visualizarse a cualquier nivel de la cóclea. En el interior de la substancia fundamental de la pp a veces aparecen algunas células dispuestas radialmente, cuyas características son semejantes a las expuestas para las timpánicas y se localizan, sobre todo, en la spm alta y en la spa de los animales jóvenes (Fig. 21).

La distribución de la substancia fundamental varía no solo a lo largo del cc sino también en sentido radial a través de la mb donde existen diferencias marcadas entre sus dos porciones (Fig. 22). En la pt se dispone formando tres zonas distintas: a) una banda delgada medial que discurre paralelamente a la lámina o membrana basal a nivel del pilar interno, b) un engrosamiento debajo del túnel de Cortí que corresponde al área del vaso espiral y c) una región de grosor variable a la altura del pilar externo. En la pp sin embargo adopta una forma de lente convexa cuyo máximo espesor se localiza entre su tercio medio y externo, disminuyendo gradualmente hacia ambos extremos, el pilar externo y la cresta basilar.

Las variaciones que experimenta la substancia fundamental en el plano longitudinal de la cóclea se ilustran esquemáticamente en la Fig. 14, donde aparece representada en seis posiciones distintas de un mismo animal. El máximo grosor de la pp se encontró a nivel de la spb, mientras que el de la pt se localizó al comienzo de la spm o en la parte alta de la spb. Después

ambas porciones membranosas disminuyen de tamaño a medida que sus determinaciones se aproximan a la región apical (Tabla IV). En la spm alta (19 ± 1 mm), la substancia fundamental desaparece de la zona situada debajo del pilar externo (Fig. 23) y prácticamente no existe en la casi totalidad de la pt, a la altura del extremo apical de la cóclea, quedando los filamentos en contacto directo con el espacio perilinfático de la rampa timpánica. En la pp, la relación máximo/mínimo representa un factor de disminución de 2,24 veces entre los dos extremos analizados del cc.

En la porción más baja de la spb se observó que el área correspondiente al vaso espiral estaba completamente ocupada por una masa compacta de substancia fundamental (Fig. 24). Sin embargo, a unos 6 mm de distancia de la vr aproximadamente, comienza a aparecer un pequeño espacio claro en su centro (Fig. 25) que aumenta gradualmente a lo largo del cc. En la región apical este espacio está rodeado por una delgada capa de substancia fundamental y en su interior se observan algunas prolongaciones de las células timpánicas que, en ocasiones, se acompañan de uno o dos cuerpos celulares con sus respectivos núcleos (Figs. 26 y 27). La presencia de capilares sanguíneos en esta zona sólo se demostró en dos de los seis gatos estudiados - con microscopía electrónica de transmisión y en estos dos animales, el vaso espiral únicamente se visualizó a nivel de la spa (Fig. 28). Sus células endoteliales no son fenestradas y se rodean por una lámina basal continua, recubierta a su vez por los perfcitos o células adventiciales (Fig. 29). Más externamente, se encuentran las células timpánicas y la substancia fundamental.

TABLA IV

GROSOR MEDIO DE LA SUBSTANCIA FUNDAMENTAL

Localización	PARS TECTA			PARS PECTINATA		
	Pilar Interno	Area Vaso Espiral	Pilar Externo	Células Deiters	Zona máximo Grosor	Cresta Basilar
mm	μm	μm	μm	μm	μm	μm
3,00- 4,00	$2,47 \pm 0,40$	$13,60 \pm 1,46$	$6,38 \pm 2,08$	$5,99 \pm 0,40$	$12,67 \pm 0,13$	$4,70 \pm 0,40$
8,00- 9,00	$3,84 \pm 0,60$	$15,33 \pm 0,23$	$5,29 \pm 0,05$	$6,55 \pm 0,84$	$12,25 \pm 1,71$	$4,86 \pm 0,14$
13,00-14,00	$3,99 \pm 0,58$	$15,14 \pm 0,67$	$3,79 \pm 1,03$	$8,41 \pm 1,10$	$10,11 \pm 0,50$	$4,84 \pm 0,43$
16,00-17,00	$2,54 \pm 1,45$	$15,95 \pm 3,27$	$2,68 \pm 1,92$	$7,53 \pm 3,90$	$12,60 \pm 3,89$	$4,40 \pm 0,20$
18,00-19,00	$1,75 \pm 0,74$	$10,20 \pm 1,57$	No S.F. (')	$5,00 \pm 0,50$	$9,33 \pm 3,03$	$4,84 \pm 0,30$
20,00-21,00	$1,22 \pm 0,50$	$8,19 \pm 0,60$	No S.F. (')	$2,73 \pm 0,42$	$6,11 \pm 1,40$	$4,18 \pm 0,68$
22,50-23,60	$0,76 \pm 1,07$	No S.F. (')	No S.F. (')	No S.F. (')	$5,66 \pm 0,48$	$3,07 \pm 0,41$

(') S. F.: Substancia Fundamental

5.1.1.3. La porción filamentosa

La porción filamentosa de la mb se compone de filamentos radiales que generalmente se encuentran alojados en el interior de la substancia fundamental y a su vez están englobados o envueltos por una substancia homogénea más densa que la anterior (Figs. 5, 6, 7, 8 y 30). Tienen un diámetro de 90 a 120 Å y sus bordes muestran una densidad irregular (Fig. 30A). En la sección perpendicular al eje mayor de los mismos se observa que poseen cuatro o cinco subfibrillas dispuestas a modo de rectángulo o en forma de diamante (Fig. 30B).

Los filamentos presentan una organización diferente en cada una de las dos porciones de la mb, como ya se ilustró en las Figs. 6 y 7. En la pt constituyen una capa compacta en la que no existen soluciones de continuidad (Figs. 31, 32 y 33); mientras en la pp se agrupan en haces que se distribuyen en dos o más estratos, encontrando abundante substancia fundamental entre ellos (Figs. 34, 35 y 36). El estrato superior está formado por haces de mediano tamaño muy próximos unos a otros, con lo que adquiere una apariencia continua en su mayor parte (Fig. 37). Por el contrario, el estrato inferior se compone de haces más voluminosos e independientes que están separados por la substancia fundamental (Fig. 38).

Los resultados de las determinaciones cuantitativas de esta porción filamentosa se recogen, para cada gato, en las Tablas V y VI, respectivamente. En ellas se demuestra que la densidad de los filamentos en los haces ($F/\mu m^2$) no presenta alteraciones importantes a lo ancho de la mb, excepto a nivel del pilar interno donde disminuye de forma notable sobre todo en las espiras apical y media. Este hallazgo se explica en función de que en dicha zona, los filamentos se hallan ampliamente diseminados y están además como englobados en unas formaciones densas que parecen corresponder a substancia homogénea o fundamental, dificultando enormemente su localización y por lo

tanto la cuantificación de los mismos (Figs. 39 y 40). Es probable que en esta dispersión influya, al menos parcialmente, el cambio direccional que algunos filamentos experimentan en la parte medial del túnel de Corti, a cuyo nivel modifican su orientación radial para adquirir una disposición oblicua, penetrando así de forma divergente en el área del pilar interno (Figs. 32 y 41). Sin embargo, a pesar de que existe esta variación cuantitativa a través de la mb, el análisis de los datos correspondientes a la densidad de los filamentos en las distintas espiras demuestra que su valor no presenta una diferencia estadísticamente significativa a lo largo del cc (Tablas VII y VIII), tanto si se incluyen como si se excluyen los resultados procedentes de dicha zona. La densidad media obtenida en los haces fué de $1430 \pm 250 \text{ F}/\mu\text{m}^2$.

Ahora bien, cuando se determina el número de filamentos en función de la longitud de la mb ($\text{F}/\mu\text{m}$), se observa que existen amplias diferencias cuantitativas, no solo a través de dicha estructura (Tablas V y VI), sino también en los distintos niveles de la cóclea (Tabla IX). En el plano radial, estas variaciones son muy evidentes en la pp donde se encuentra que la población filamentosa de su estrato superior disminuye progresivamente, desde la cresta basilar del ligamento espiral hasta el pilar externo, mientras la del inferior muestra cambios opuestos (Tablas V y VI). Estos datos concuerdan con la aparición en el estrato superior de haces cada vez más delgados que presentan soluciones de continuidad a nivel de la spm alta y de la spa. La discontinuidad entre los haces comienza a evidenciarse a la altura de las células de Hensen y aumenta gradualmente de tamaño a medida que su localización se aproxima al pilar externo; por el contrario, el estrato inferior posee unos haces cada vez más voluminosos (Figs. 42, 43, 44 y 45). Estos cambios complementarios, ocurridos en las dos capas filamentosas de la pp, se relacionan con la presencia de pequeños haces intermedios que parecen descender de la superior a la inferior y pueden visualizarse a diferentes alturas de la sustancia fundamental. En la porción más baja de la spb fué imposible obtener datos individuales de cada estrato, pues dichos haces inter-

medios eran tan numerosos, que no permitieron distinguir capas independientes (Fig. 46).

Ambos estratos, superior e inferior, se van aproximando poco a poco en su trayecto medial y a nivel de la primera célula de Deiters ya establecen un contacto directo, aunque aún pueden diferenciarse claramente cada uno de ellos (Figs. 47 y 48). A la altura de la terminación lateral de los tonofilamentos del pilar externo se unen dando lugar a la capa compacta que caracteriza a la pt (Figs. 49 y 50). El número de filamentos/ μm de longitud de la mb no se obtuvo en la zona del pilar interno ya que su irregular distribución y gran dispersión hizo impracticable el determinar el área ocupada por ellos.

En el túnel de Corti, un grupo de filamentos se separa del resto y se introduce en el área correspondiente al vaso espiral. Forman una especie de medio arco que se sitúa en el interior de la sustancia fundamental muy cerca de su borde libre, recorriendo unas veces la superficie modiolar y - otras la lateral (Figs. 24, 51 y 52). Este hecho parece indicar que se trata de dos haces independientes cuya salida de la pt se realiza a niveles diferentes. Estos filamentos están orientados con su eje mayor en dirección vertical y siguen un trayecto ligeramente anterior o posterior que les permite unirse con los del lado opuesto en la zona más baja (Figs. 53 y 54). El número de filamentos que constituye este soporte del vaso espiral es muy variable y está en relación con el nivel coclear, siendo muy abundantes en la spb y casi inexistentes en la región apical (Figs. 26 y 27).

El número de filamentos de la mb varía de una forma muy marcada en función de la longitud del cc (Tabla X). En la spb baja, 4 mm, los filamentos ocupan todo el espesor de la sustancia fundamental (Figs. 46 y 55), obteniendo a su nivel un valor medio de 5415 ± 737 F/ μm . Este número disminuye a medida que aumenta la distancia a la vr, reduciéndose a 1342 ± 129 en

la spm y a 486 ± 15 en el extremo apical de la cóclea (Fig. 56). Estos datos muestran que el área ocupada por los filamentos experimenta una disminución de 11,14 veces entre los dos extremos estudiados del cc, correspondiendo a la zona de los 4 y 23 mm, respectivamente.

TABLA V

Gato 908

Localización	DENSIDAD DE LOS FILA- MENTOS EN LOS HACES (F/μm ²)			NUMERO DE FILAMENTOS EN FUNCION DE LA LONGITUD (F/μm)		
	Apical 22 mm	Media 14 mm	Basal 4 mm	Apical 22 mm	Media 14 mm	Basal 4 mm
C. de CLAUDIUS						
	E. Superior	1500	1169	189	784	Lleno de Haces
	E. Inferior	1600	1175	426	602	
C. de HENSEN						
	E. Superior	1361	1481	175	729	Lleno de Haces
	E. Inferior	1616	1278	534	677	
C. de DEITERS						
	E. Superior	1543	1345	126	497	6223
	E. Inferior	1561	1367	626	919	
PILAR EXTERNO		1543	1251	718	1428	5243
TUNEL DE CORTI		1506	1063	506	1269	4779
PILAR INTERNO		958	500			1243

TABLA VI

Gato 963

Localización	DENSIDAD DE LOS FILAMENTOS EN LOS HACES (F/ μm^2)			NUMERO DE FILAMENTOS EN FUNCION DE LA LONGITUD (F/ μm)			
	Apical 23mm	Media 17 mm	Basal 9 mm	Apical 23 mm	Media 17 mm	Basal 9 mm	
C. de CLAUDIUS							
	E. Superior	1580	1664	1400	137	692	777
	E. Inferior	1440	1466	1450	343	655	958
C. de HENSEN							
	E. Superior	1358	1479	1504	112	527	656
	E. Inferior	1945	1548	1400	364	826	935
C. de DEITERS							
	E. Superior	1622	1231	1592	74	453	602
	E. Inferior	1441	1359	1375	402	949	1089
PILAR EXTERNO		1397	1587	1720	487	1479	1840
TUNEL DE CORTI		1380	1764	1552	512	1131	1739
PILAR INTERNO		900	1200	1269			

TABLA VII

DENSIDAD DE LOS FILAMENTOS DE LA MEMBRANA BASILAR

Gato 908

<u>LOCALIZACION</u>		<u>DENSIDAD F/μm²</u>	
<u>Espira</u>	<u>mm</u>	<u>Sin incluir A.P.I. (*)</u>	<u>Incluyendo A.P.I. (*)</u>
APICAL	22	1529 ± 79	1465 ± 204
MEDIA	14	1266 ± 131	1181 ± 284
BASAL	4	1633 ± 308	1568 ± 318
<u>DENSIDAD MEDIA F/μm²</u>		1453 ± 227	1384 ± 303

(*) A.P.I.: Area del Pilar Interno

TABLA VIII

DENSIDAD DE LOS FILAMENTOS DE LA MEMBRANA BASILAR

Gato 963

<u>LOCALIZACION</u>		<u>DENSIDAD F/μm²</u>	
<u>Espira</u>	<u>mm</u>	<u>Sin incluir A.P.I. (*)</u>	<u>Incluyendo A.P.I. (*)</u>
APICAL	23	1520 ± 195	1451 ± 276
MEDIA	17	1512 ± 168	1477 ± 189
BASAL	9	1499 ± 118	1473 ± 134
DENSIDAD MEDIA F/μm ²		1510 ± 157	1467 ± 200

(*) A.P.I.: Area del Pilar Interno

TABLA IX

DISTRIBUCION COCLEAR DE LOS FILAMENTOS DE LA
MEMBRANA BASILAR

Localización	Número medio de Filamentos en Función de la Longitud	Densidad Media
Espira	F/ μ m	F/ μ m ²
BASAL	3567 \pm 2613	
MEDIA	1362 \pm 98	1430 \pm 250
APICAL	563 \pm 113	

111

TABLA X

NUMERO DE FILAMENTOS DE LA MEMBRANA BASILAR EN
FUNCION DE LA LONGITUD

<u>LOCALIZACION</u>		<u>NUMERO DE FILAMENTOS</u>
<u>Espira</u>	<u>mm</u>	<u>F/μm</u>
BASAL BAJA	4	5415 \pm 737
BASAL ALTA	9	1719 \pm 90
MEDIA BAJA	14	1381 \pm 65
MEDIA ALTA	17	1342 \pm 129
APICAL	22	660 \pm 99
EXTREMO APICAL	23	486 \pm 15



5.1.2. Lámina o membrana basal

La lámina o membrana basal es una estructura lineal, semiopaca y de apariencia finamente granular, que marca la separación entre el órgano de Corti y la mb (Figs. 8, 23, 32, 35, 36, 37, 41, 42, 43, 44 A, 45, 46, 47, 48, 49, 55 y 56). El término membrana basal se ha utilizado e incluso se usa actualmente, en todos los estudios relacionados con el órgano de Corti. Sin embargo no es adecuado su empleo en las descripciones ultraestructurales pues, al tener su origen en la microscopía óptica, implica que las capas de fibras conectivas subyacentes también forman parte de la misma unidad. Este hecho condujo a la introducción del término lámina basal para este tipo de estructura (60, 107). La dificultad que supone romper con la denominación antigua y al mismo tiempo reconocer cual es la adecuada, ha motivado que se establezca el empleo de ambas a lo largo de este trabajo.

El grosor de la lámina o membrana basal varía de 400 a 600 Å, sin que se observaran diferencias significativas en el mismo entre la pt y la pp, ni tampoco a lo largo del cc. Está separada de la membrana plasmática de las células de soporte del órgano de Corti por una distancia de 200 a 400 Å y de la porción filamentosa de la mb por un espacio que oscila entre los 200 y unos pocos Å (Fig. 57). Estas zonas marginales, sobre todo la primera, están irregularmente ocupadas por un material granular que tiene una densidad similar o un poco menor a la propia de la lámina o membrana basal.

En la spm alta y en la región apical de todas las cócleas estudiadas se descubrió que la lámina o membrana basal era discontinua en ciertas zonas de la pp, permitiendo una libre comunicación entre los espacios intercelulares del órgano de Corti y la mb (Fig. 58). A su nivel dicha estructura se dobla sobre dos células de Hensen adyacentes, a las que envuelve, terminando en su membrana plasmática. Entre ellas deja un espacio sin cubrir de tamaño variable, cuya medición aportó fluctuaciones desde 0,09 hasta 1,8

um (Fig. 59). Estas soluciones de continuidad se evidenciaron por encima - del área de los 18 mm en todos los especímenes examinados y en dos casos también se encontraron a la altura de la spm baja entre los 14 y 15 mm aproximadamente. Su presencia asociada con las demás características morfológicas que posee la mb en estos niveles altos de la cóclea (Fig. 60): disminución marcada de la zona ocupada por los filamentos, estrato filamentososo superior delgado y discontinuo, escaso grosor de la substancia fundamental y laxa distribución de las células timpánicas con abundantes espacios líquidos entre ellas, parece indicar la posibilidad de que se produzca un libre contacto de la perilinfa timpánica con el interior del órgano de Corti.

5.2. Anchura de la membrana basilar

Los resultados de las mediciones de la anchura de la mb se presentan individualmente en función de la técnica microscópica empleada para su determinación: óptica (5.2.1.), electrónica de transmisión (5.2.2.) y de contraste de fase (5.2.3.). A continuación se expone el error cuantitativo que se ha introducido al identificar el eje mayor de las tres células ciliadas externas con el plano radial de la mb y se aplican los factores de corrección necesarios para cada caso (5.2.4.). Por último se efectúa un análisis global de todos los datos anteriores (5.2.5.).

5.2.1. Determinaciones con Microscopía Óptica

Las Tablas XI, XII, XIII y XIV recogen respectivamente, los resultados de las determinaciones radiales de la mb obtenidos en cada uno de los cuatro gatos que se estudiaron con microscopía óptica. Los cinco puntos de medida que en ellas aparecen, corresponden a la localización de aquellos cortes cuyo plano de sección coincide con el radial de la mb, apreciándose que su situación en los distintos animales no muestra diferencias significativas cuando se comparan niveles análogos de la cóclea. Así, al hallar la re-

gresión lineal mínima cuadrada para cada dos posiciones consecutivas de la misma, se forman cuatro segmentos distintos y bien delimitados a lo largo del cc (Tabla XV). El segmento I discurre por la porción de spb comprendida entre el milímetro $7,45 \pm 0,50$ y el $12,20 \pm 0,50$, el segmento II ocupa la spm baja hasta el milímetro $15,61 \pm 0,40$, el segmento III se extiende a través de la spm alta hasta el área de los $18,63 \pm 0,30$ mm y el segmento IV alcanza la - spa, terminando en la zona de los $20,83 \pm 0,20$ mm.

Las variaciones que experimentan las distintas distancias obtenidas a lo ancho de la mb entre los 7 y 21 mm de la cóclea se ilustran gráficamente en la Fig. 61. En ella aparecen cuatro curvas que corresponden, de arriba abajo, a las determinaciones efectuadas desde su límite externo, cresta basilar del ligamento espiral, al surco espiral interno, a la lámina espiral ósea, al pilar interno cuyos resultados se han fijado como representativos - de la anchura total de la mb y al pilar externo que indica la medida de la pp. La distancia existente entre estas dos últimas curvas expresa el espacio perteneciente a la pt. Se observa que todas las gráficas tienen un cierto paralelismo entre sí, excepto aquella que toma la lámina espiral ósea como punto de referencia medial. Esta disociación se debe a que dicha estructura presenta una gran reducción de su tamaño radial en la spm y sobre todo, en la spa.

Las cuatro curvas muestran que se produce un aumento de estas - distancias radiales desde la región basal a la apical de la cóclea. Pero este incremento constante no es regular sino que varía en función de la posición del punto de medida a lo largo del cc (Tabla XV). La pendiente o razón de incremento de la anchura/mm de longitud (S) adquiere en todas las determinaciones realizadas, un valor máximo a nivel del segmento IV mientras que el mínimo se localiza en el segmento I y exhibe valores intermedios en los segmentos II y III, aunque en este último es ligeramente menor que en el anterior. Esta disminución de la pendiente en la spm alta no se evidenció en -

las mediciones relacionadas con la lámina espiral ósea que mantienen de forma continua su progresión ascendente.

Tanto la anchura de la mb como la de la pp siguen el patrón general anteriormente descrito. Ambos parámetros aumentan de una forma lenta a lo largo de la spb o segmento I, acentuando la pendiente de su incremento en la spm sobre todo en el segmento II o porción baja de la misma. El máximo ensanchamiento siempre se localizó en la zona apical, donde también se encontró una mayor dispersión de sus medidas que en el resto de la cóclea.

Los valores máximos y mínimos correspondientes a cada una de las cuatro gráficas así como el factor de aumento que existe entre ellos, se exponen en la Tabla XVI. En ella se observa que la relación obtenida entre los dos extremos cocleares medidos, 7 y 21 mm, es más amplia en las determinaciones que alcanzan la lámina espiral ósea donde representa un factor de - 2,32 veces. En cambio, los datos procedentes del surco espiral interno muestran una variación de solo 1,55 veces que es incluso menor a la establecida para la anchura total de la mb, 1,65 veces. Este hallazgo indica que la distancia propia del surco espiral interno aumenta mucho menos intensamente, 1,36 veces, que las dos porciones de la mb, cuyo factor de incremento es de 1,51 veces en la pt y de 1,76 veces en la pp.

TABLA XI

MEDICIONES RADIALES DE LA MEMBRANA BASILAR CON MICROSCOPIA OPTICA

Gato 504

COCLEA IZQUIERDA

Localización mm	Pilar externo μm	Pilar interno μm	Lámina espiral ósea μm	Surco espiral interno μm
7,62	111,20	195,99	219,62	312,50
12,55	116,76	208,50	258,54	337,50
15,58	155,68	269,66	344,72	387,50
18,85	169,58	286,34	403,10	437,50
21,00	202,54	308,58	469,82	475,00

COCLEA DERECHA

7,78	113,98	200,16	227,96	312,50
12,61	120,93	221,01	275,22	350,00
16,10	152,90	262,71	333,60	387,50
18,82	166,80	283,56	408,66	425,00
20,87	194,60	323,87	500,40	462,50

TABLA XII

MEDICIONES RADIALES DE LA MEMBRANA BASILAR CON MICROSCOPIA OPTICA

Gato 505

COCLEA IZQUIERDA

Localización mm	Pilar externo μm	Pilar interno μm	Lámina espiral ósea μm	Surco espiral interno μm
6,94	116,76	202,94	225,40	312,50
11,59	125,10	219,62	266,88	350,00
15,18	152,90	261,32	319,70	387,50
19,08	175,14	290,51	439,24	425,00
20,68	197,38	322,48	533,76	475,00

COCLEA DERECHA

6,96	113,98	197,38	220,30	312,50
11,81	120,93	214,06	264,10	343,75
15,28	144,56	255,76	325,26	400,00
18,27	172,36	289,12	411,44	425,00
20,73	200,16	322,48	503,18	475,00

TABLA XIII

MEDICIONES RADIALES DE LA MEMBRANA BASILAR CON MICROSCOPIA OPTICA

Gato 506

COCLEA IZQUIERDA

Localización	Pilar externo	Pilar interno	Lámina espiral ósea	Surco espiral interno
mm	μm	μm	μm	μm
7,96	125,10	208,50	225,18	306,00
12,78	130,66	232,13	289,12	362,50
15,95	164,02	280,78	347,50	406,25
18,73	180,70	303,02	389,20	443,75
20,84	200,16	332,21	472,60	475,00

COCLEA DERECHA

8,12	119,54	205,72	225,18	312,50
12,64	127,88	227,96	289,12	350,00
15,96	152,90	269,66	336,38	400,00
18,62	175,14	289,12	372,52	425,00
20,96	200,16	325,26	458,70	465,25

TABLA XIV

MEDICIONES RADIALES DE LA MEMBRANA BASILAR CON MICROSCOPIA OPTICA

Gato 507

COCLEA IZQUIERDA

Localización mm	Pilar externo μm	Pilar interno μm	Lámina espiral ósea μm	Surco espiral interno μm
6,91	111,20	194,60	216,84	300,00
11,74	119,54	214,06	269,66	337,50
15,16	144,56	250,20	330,82	375,00
18,38	177,92	286,34	394,76	425,00
20,86	205,72	339,16	533,76	475,00

COCLEA DERECHA

7,29	111,20	189,04	214,05	300,00
11,90	116,76	208,50	272,44	331,25
15,38	144,56	247,42	325,26	381,25
18,34	166,80	280,78	400,32	400,00
20,66	197,38	316,92	461,48	462,50

TABLA XV

ANCHURA MEDIA DE LA MEMBRANA BASILAR CON
MICROSCOPIA OPTICA

ECUACION DE LA RECTA DE MINIMOS CUADRADOS

$$Y = B + (X \cdot S)$$

Y: Distancia radial (μm)

B: Intersección (μm)

X: Localización coclear (mm)

S: Pendiente (μm/mm)

		<u>Pilar externo</u>	<u>Pilar interno</u>	<u>Lámina espiral ósea</u>	<u>Surco espiral interno</u>
SEGMENTO I	B:	103, 31	168, 11	134, 86	251, 36
7, 45 \pm 0, 50 mm					
12, 20 \pm 0, 50 mm	S:	1, 58	4, 13	11, 38	7, 69
SEGMENTO II	B:	18, 95	60, 08	60, 96	184, 82
-15, 61 \pm 0, 40 mm	S:	8, 48	12, 95	17, 40	13, 16
SEGMENTO III	B	39, 59	120, 80	-25, 01	206, 48
-18, 63 \pm 0, 30 mm	S:	7, 16	9, 02	22, 93	11, 78
SEGMENTO IV	B:	-47, 85	-3, 90	-337, 52	45, 65
-20, 83 \pm 0, 20 mm	S:	11, 87	15, 71	39, 76	20, 40

TABLA XVI

ANCHURA MEDIA DE LA MEMBRANA BASILAR

MAXIMOS Y MINIMOS OBTENIDOS CON MICROSCOPIA OPTICA

Distancias Medidas	Mínimo 7 mm μm	Máximo 21 mm μm	Factor de aumento
PILAR EXTERNO (')	114,37	201,42	1,76
PILAR INTERNO ('')	197,07	326,00	1,65
PARS TECTA	82,70	124,58	1,51
LAMINA ESPIRAL OSEA	214,53	497,52	2,32
SURCO ESPIRAL INTERNO	305,20	474,12	1,55
(') Pars Pectinata			
('') Anchura Total			

5.2.2. Determinaciones con Microscopía Electrónica de Transmisión

Los resultados de las mediciones de la anchura de la mb obtenidos con la técnica de microscopía electrónica de transmisión se agrupan en las Tablas XVII y XVIII. La primera corresponde a los tres animales jóvenes y la segunda a los tres adultos. Estos datos aparecen representados mediante seis curvas en la Fig. 62, e ilustran las modificaciones experimentadas por dicho parámetro en cada una de las cócleas. Aunque la forma de estas gráficas muestra amplias variaciones individuales, en todas ellas se observa que la anchura de la mb aumenta marcadamente a lo largo del cc, desde la base hasta el ápice. En esta última zona se localizó su máximo valor, cuya variabilidad cuantitativa es más acusada que en el resto de las medidas. A pesar de que no se pudo establecer la presencia de diferencias claramente significativas en relación con la edad de los gatos examinados sin embargo, se encontró que las determinaciones procedentes de los adultos eran casi siempre un poco mayores que las aportadas por los jóvenes, sobre todo en dicha porción apical. Este hallazgo quizás deba ser considerado como el resultado de la distinta posición de las áreas analizadas en ambos grupos.

La anchura media total de la mb y de la pp se obtuvieron hallando la regresión lineal mínima cuadrada para cada dos posiciones de medida, situadas en regiones consecutivas de la cóclea (Tabla XIX). De este modo se formaron cuatro segmentos similares a los logrados con el método de microscopía óptica, que se distribuyeron entre los 5 y 21 mm del cc. Aunque se realizaron seis determinaciones por espécimen, la información proveniente de los últimos 2,6 mm apicales fué insuficiente y no permitió establecer conclusiones acerca de las modificaciones que experimenta la mb en esta zona, por lo que se precisó efectuar posteriormente un cuidadoso análisis de la misma. El segmento I se dirige desde los $6,00 \pm 0,70$ mm hasta los $9,33 \pm 0,68$ mm y corresponde a la mayor parte de la spb baja, el segmento II alcanza el milímetro $12,91 \pm 0,86$ indicando el comienzo de la spm, el segmento III discurre

a través de ella llegando hasta los $17,71 \pm 6,9$ mm y el segmento IV termina en los $19,91 \pm 0,86$ mm de la porción apical. La pendiente o razón de incremento de su anchura por milímetro de longitud (S) es diferente para cada uno de ellos y aumenta gradualmente a lo largo del cc, tanto para la distancia total como para la pp (Tabla XIX). Ambas medidas se representan en la Fig. 63 por una curva, respectivamente, que se extiende desde los 5 a los 21 mm y cuyo incremento aparenta ser casi lineal, a diferencia de las gráficas obtenidas en el apartado anterior (Fig. 61). Entre sus extremos se encontró una variación de 1,78 veces para la anchura total de la mb y de 1,75 veces para la de la pp, mientras que en la pt representa un factor de 1,81 veces.

La anchura de la mb se estudió detalladamente en el extremo apical de otras tres cócleas, determinando su distancia total y la correspondiente a cada una de sus dos porciones. La media de estos resultados aparece en la Tabla XX, donde también se incluyen los datos procedentes de la zona de la vr y de los primeros milímetros de la mb obtenidos con el microscopio de contraste de fase, y los valores previamente establecidos para el área comprendida entre los 5 y 7 mm. La incorporación de estas medidas a las anteriores permite alcanzar una información completa de las modificaciones presentadas por este parámetro a todo lo largo del cc. La Fig. 64 ilustra la forma de las dos gráficas resultantes, la A representa la anchura total de la mb, la B refleja la distancia de la pp y el espacio que existe entre ellas pertenece a la pt. Ambas curvas tienen su mínimo localizado en la vr, mientras que el máximo lo sitúan aproximadamente en el área de los 22 mm y una vez sobrepasado este punto disminuyen de forma paulatina a través del último milímetro y medio de la región apical. La gráfica A muestra un ascenso bastante marcado en los 3 primeros mm de la cóclea, en cambio la B mantiene un ritmo de crecimiento más lento, indicando el notable incremento de la pt en esta zona. En general, la pendiente es más acusada en la curva A que en la B, provocando una separación cada vez mayor entre ellas a medida que se alejan de la vr. Esta observación es el resultado del ensanchamiento progresivo que sufre la

pt a través del cc.

En la Tabla XXI se agrupan y relacionan entre sí, los valores medios cuantitativos correspondientes al máximo, mínimo y final apical de la cóclea en cada una de las dos curvas descritas. En ella se observa que la anchura total de la mb presenta una variación de 3,39 veces entre ambos extremos del conducto, transformándose en 3,55 veces cuando se determina la razón máximo/mínimo. Los datos pertenecientes a la pp demuestran que en esta zona, la relación entre los puntos señalados representa un factor de solo 3,02 y 3,12 veces.

Los cambios que experimenta la anchura de la pt en el plano longitudinal de la cóclea se representan mediante una curva en la Fig. 65. Su configuración es similar a la de las dos anteriores, pero se distingue de ellas por no presentar un ascenso brusco en el milímetro previo a la localización del máximo, situado también en el área de los 22 mm. El ensanchamiento de esta porción membranosa es más acusado que el de la pp, habiéndose establecido un factor de 4,29 veces entre sus extremos basal y apical, que se convierte en 4,61 al relacionar sus valores máximo y mínimo (Tabla XXII). Este aumento, sin embargo, no es uniforme sino variablemente progresivo y se acentúa de forma marcada en los tres primeros milímetros basales, donde muestra un incremento de $11,16 \mu\text{m}/\text{mm}$ que contrasta con el de $4,13 \mu\text{m}/\text{mm}$ encontrado en los 19 mm restantes.

TABLA XVII

ANCHURA DE LA MEMBRANA BASILAR EN LOS ANIMALES JOVENES

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION

<u>GATO 908</u>			<u>GATO 1007</u>			<u>GATO 991</u>		
Localización mm	Total μm	P.P. (') μm	Localización mm	Total μm	P.P. (') μm	Localización mm	Total μm	P.P. (') μm
3,25	172,61	113,83	5,50	184,34	106,51	3,50	173,21	106,20
9,00	214,56	123,14	9,50	222,90	127,90	8,50	196,00	115,56
12,00	217,14	124,57	12,00	250,81	154,06	9,50	198,00	125,01
13,50	240,00	140,30	17,00	290,57	172,51	17,00	274,51	152,68
18,50	266,30	156,25	19,00	345,03	199,06	19,50	307,25	177,25
20,50	327,17	191,93	20,50	322,53	188,76	21,25	322,52	189,51

(') P.P.: Pars Pectinata

TABLA XVIII

ANCHURA DE LA MEMBRANA BASILAR EN LOS ANIMALES ADULTOS

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION

<u>GATO 963</u>				<u>GATO 962</u>				<u>GATO 972</u>			
Localización mm	Total μm	P.P. (') μm	Localización mm	Total μm	P.P. (') μm	Localización mm	Total μm	Localización mm	Total μm	P.P. (') μm	Total μm
5, 50	189, 23	118, 03	7, 00	203, 84	116, 61	6, 00	201, 03	118, 70			
9, 00	230, 16	129, 26	10, 50	226, 60	126, 92	13, 50	270, 00	154, 69			
12, 50	264, 15	144, 30	14, 00	240, 36	130, 89	18, 00	315, 03	188, 26			
17, 00	269, 29	148, 30	18, 00	280, 26	154, 96	19, 00	328, 60	193, 07			
18, 50	316, 93	172, 28	21, 00	317, 87	191, 66	22, 00	425, 53	266, 92			
22, 00	367, 82	239, 53	22, 50	337, 59	193, 39	23, 00	365, 53	238, 15			

(') P.P.: Pars Pectinata

TABLA XIX

ANCHURA MEDIA DE LA MEMBRANA BASILAR Y DE LA PARS PECTINATACON MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISIONECUACION DE LA RECTA DE MINIMOS CUADRADOS

$$Y = B + (X.S)$$

Y : Anchura membranosa (μm)

B : Intersección (μm)

X : Localización coclear (μm)

S : Pendiente (μm/mm)

		<u>Anchura Total</u>	<u>Pars Pectinata</u>
SEGMENTO I	B:	154,00	96,76
6,00±0,70 mm			
9,33±0,68 mm	S:	6,58	2,99
SEGMENTO II	B:	133,56	85,83
-12,91±0,86 mm	S:	8,74	4,24
SEGMENTO III	B:	139,00	84,60
-17,71±0,69 mm	S:	8,37	4,43
SEGMENTO IV	B:	73,99	5,27
-19,91±0,86 mm	S:	12,31	9,10

TABLA XX

ANCHURA MEDIA DE LA MEMBRANA BASILAR, PARS PECTINATA
Y PARS TECTA A NIVEL DE LOS EXTREMOS BASAL Y
APICAL DE LA COCLEA

Localización	Anchora Total	Pars Pectinata	Pars Tecta
mm	μm	μm	μm
V.R. (')	106,00	75,00	31,00
1,00	126,00	82,50	43,50
2,00	145,50	93,50	52,00
3,00	169,26	104,76	64,50
4,00	177,45	109,61	67,84
5,00	186,90	111,71	75,19
6,00	193,48	114,70	78,78
22,00	377,00	234,00	143,00
23,00	365,00	230,00	135,00
23,60	360,00	227,00	133,00

(') V.R. : Ventana Redonda

TABLA XXI

VALORES MEDIOS MAXIMOS Y MINIMOS DE LA ANCHURA TOTAL
DE LA MEMBRANA BASILAR Y DE LA PARS PECTINATA OBTENI-
DOS CON MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION

	Anchura Total de la M. B. (')	Anchura de la P. P. (')
	<u>µm</u>	<u>µm</u>
MINIMO	106	75
V. R. (''')		
MAXIMO	377	234
22 mm		
E. A. P. (''')	360	227
23,60 mm		
Relación	Factor de Aumento	
MAX / MIN	3,55	3,12
E. A. P. (''') / MIN	3,39	3,02

(') M. B.: Membrana Basilar

('') P. P.: Pars Pectinata

('''') V. R.: Ventana Redonda

('''') E. A. P.: Extremo Apical

TABLA XXII

VARIACION DE LA ANCHURA MEDIA DE LA PARS TECTA A LO LARGO DE LA COCLEA.

MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION

Localización mm	Anchura μm	Factor de Aumento	Incremento Unitario μm / mm
V. R. (')	31, 00	3 mm / V. R. ('): 2, 08	11, 16
3, 00	64, 50	Máx / 3 mm: 2, 21	4, 13
22, 00	143, 00	Máx / Mfn: 4, 61	5, 09
23, 60	133, 00	E. AP. (') / V. R.: 4, 29	4, 32

(') V. R.: Ventana Redonda

('') E. AP.: Extremo Apical

5.2.3. Determinaciones con Microscopía de Contraste de Fase

Los resultados de las mediciones de la anchura de la mb que se obtuvieron para cada uno de los cinco gatos en el estudio de superficie, realizado con microscopía de contraste de fase, se exponen en las Tablas XXIII, XXIV, XXV, XXVI y XXVII. La localización de estas medidas se expresa en función del milímetro que indica su posición real dentro de la cóclea, del milímetro normalizado para una longitud total estándar de 23,60 mm y del porcentaje de esta última. Los datos procedentes de cada animal se representan con distintos caracteres en la Fig. 66 comprobándose en todos ellos que, a pesar de las diferencias cuantitativas individuales, la anchura de la mb aumenta desde la región basal a la apical de la cóclea, donde siempre se encuentra su máximo valor y posteriormente se estrecha hacia el extremo final del conducto.

La anchura media de la mb se estableció determinando sistemáticamente la media proporcional de todas las medidas que se recogieron en cada uno de los segmentos cocleares correspondientes al 5% de la longitud total. De esta forma se pueden evidenciar alteraciones ocurridas en intervalos de 1,18 mm. Esta periodicidad espacial es, sin embargo, excesivamente grande para valorar con exactitud los intensos cambios que se producen en los milímetros iniciales y finales de la cóclea. Por este motivo, a su nivel se efectuó la media en cada 0,59 mm de distancia (Tabla XXVIII). La ilustración gráfica de los resultados previos da origen a la curva de la Fig. 66 que representa las modificaciones experimentadas por dicho parámetro en función del porcentaje de la longitud coclear. Su estudio detenido demuestra que el ensanchamiento de la mb no es uniformemente progresivo desde la región basal a la apical, sino que varía ampliamente a lo largo del cc.

La Tabla XXIX señala el incremento medio que presenta la anchura de la mb a través de las distintas áreas de la cóclea. En ella se observa

que entre los 0,38 y 0,73 mm contiguos a la vr, existe un aumento de aproximadamente $50 \mu\text{m}/\text{mm}$, aunque rápidamente disminuye a $17 \mu\text{m}/\text{mm}$ y es inferior a $7 \mu\text{m}/\text{mm}$, una vez sobrepasado el milímetro 5,75. Esta pendiente se mantiene en la spb restante y comienzo de la spm, ascendiendo efímeramente a $9,77 \mu\text{m}/\text{mm}$ en la zona limítrofe entre las porciones baja y alta de aquella. A partir de los 15,30 mm se produce una elevación constante de esta razón que adquiere valores de casi $20 \mu\text{m}/\text{mm}$ en la región alta de la spm y de $25,65 \mu\text{m}/\text{mm}$ al principio de la spa, transformándose en $32,68 \mu\text{m}/\text{mm}$ a lo largo de ella. En el último milímetro de la cóclea sin embargo, aparece un decremento de $-16,38 \mu\text{m}/\text{mm}$.

Estos resultados se ponen de manifiesto en la gráfica de la Fig. 66, donde se aprecia que la anchura de la mb después de su gran incremento inicial, aumenta de forma gradual a través de la spb y primeros mm de la spm, ensanchándose bruscamente al alcanzar el 65-70% de la longitud total. Esta porción coclear, que se extiende desde los 15,30 mm hasta los 17,70 mm, se relaciona con el área comprendida entre 1 y 2 kHz, según las escalas de frecuencia descritas por Koenig (115) y Schuknecht (181). A partir de dicha zona, la membrana mantiene su progresión ascendente y, de nuevo, experimenta un acusado incremento en el milímetro previo a la localización de su máximo, que se encuentra situado a la altura de los $22,69 \pm 0,15$ mm. Una vez superado éste, muestra una marcada disminución hacia el extremo apical de la cóclea.

Todos estos datos proceden de la medición directa de la anchura de la mb y expresan sus cambios a través de la porción de cc comprendido entre los $0,38 \pm 0,06$ y $23,26 \pm 0,15$ mm de distancia. Al quedar excluidas de este análisis cuantitativo la zona de la vr y el milímetro 23,60, correspondiente a la terminación final del extremo apical se optó por utilizar un método indirecto que permitiese cuantificar dicho parámetro a estos niveles. Con esta finalidad se asumió que su incremento a lo largo de los 0,38 y -

0,34 mm que respectivamente les separan de las áreas vecinas ya estudiadas, era similar al establecido en estas últimas. De esta forma se obtuvo una anchura de $87,17\text{ }\mu\text{m}$ en la vr y de $403,28\text{ }\mu\text{m}$ en los 23,60 mm. Al comparar ambos resultados se observa que la medida radial de la mb presenta una variación de 4,62 veces entre ambos extremos de la cóclea. En cambio, si la relación se efectúa entre su máximo valor, $418,19 \pm 26,43\text{ }\mu\text{m}$ y el mínimo anteriormente citado, se encuentra que entre ellos existe un factor de aumento de 4,80 veces.

El estudio de superficie resultó ser un método excelente para determinar la anchura total de la mb, debiendosele considerar el más exacto de los tres empleados por Introducir menos factores de variabilidad que los otros dos (Ap. 4.4.4.2.). Sin embargo, tiene el gran inconveniente de la superposición estructural que dificultó enormemente la definición del límite interno de la pp. Así pues, ante la imposibilidad de establecer un criterio claro sobre su correcta situación, se decidió no realizar mediciones de esta porción membranosa.

TABLA XXIII

ANCHURA DE LA MEMBRANA BASILAR

Gato 104

Longitud Total - 22,98 mm

Localización Real	Localización Normalizada	Localización en función del porcentaje de la longitud coclear	Anchura
mm		%	µm
1,81	1,85	7,86	145,71
2,06	2,11	8,95	145,71
3,47	3,56	15,11	177,14
5,99	6,14	26,06	197,14
7,27	7,46	31,63	208,57
8,06	8,27	35,06	237,14
9,21	9,44	40,05	245,71
9,83	10,08	42,75	240,00
11,31	11,60	49,19	234,28
13,49	13,84	58,68	250,45
14,33	14,70	62,34	250,00
17,17	17,61	74,69	286,00
18,92	19,41	82,32	340,00
20,42	20,95	88,82	355,71
21,05	21,60	91,60	400,00
21,67	22,24	94,30	425,71
21,82	22,38	94,91	454,28
22,56	23,15	98,15	435,40

TABLA XXIV

ANCHURA DE LA MEMBRANA BASILAR

Gato 105

Longitud Total - 24,64 mm

Localización		Localización en función del porcentaje de la longitud coclear	Anchura
Real	Normalizada		
mm		%	µm
0,38	0,36	1,53	115,71
0,81	0,77	3,28	122,86
1,80	1,73	7,32	142,86
2,77	2,65	11,23	160,00
4,33	4,14	17,56	181,43
5,39	5,16	21,89	182,86
5,60	5,36	22,73	194,28
7,90	7,56	32,05	194,28
8,32	7,96	33,75	202,86
10,75	10,29	43,63	235,70
11,76	11,26	47,73	251,43
12,61	12,07	51,17	248,57
15,63	14,96	63,42	254,28
18,01	17,24	73,10	282,85
20,05	19,19	81,35	326,35
23,68	22,67	96,10	390,28
24,29	23,24	98,56	385,71

TABLA XXV

ANCHURA DE LA MEMBRANA BASILAR

Gato 107

Longitud Total - 24,46 mm

Localización		Localización en función del porcentaje de la longitud coclear	Anchura
Real	Normalizada		
mm		%	μm
0,43	0,42	1,77	96,28
1,28	1,23	5,24	124,28
2,30	2,21	9,39	148,57
3,43	3,31	14,02	164,28
3,58	3,45	14,64	185,00
4,76	4,59	19,46	181,00
6,43	6,20	26,28	188,57
7,67	7,39	31,34	194,28
8,86	8,54	36,23	201,43
14,53	14,01	59,40	248,34
16,50	15,91	67,46	268,57
19,32	18,62	78,99	324,29
20,90	20,15	85,44	337,14
22,74	21,92	92,95	380,00
22,89	22,06	93,58	380,00
24,09	23,22	98,49	400,00
24,19	23,32	98,91	382,85

TABLA XXVI

ANCHURA DE LA MEMBRANA BASILARGato 108Longitud Total - 24,92 mm

Localización Real	Localización Normalizada	Localización en función del porcentaje de la longitud coclear	Anchura
mm		%	um
0,79	0,75	3,16	128,57
1,81	1,72	7,28	145,71
2,05	1,94	8,24	143,00
5,78	5,47	23,18	191,43
6,20	5,86	24,87	200,00
7,57	7,16	30,36	221,43
10,01	9,47	40,15	220,00
11,20	10,60	44,94	224,28
12,35	11,68	49,54	227,14
14,70	13,90	58,97	257,14
15,54	14,70	62,33	264,28
17,03	16,11	68,32	278,57
17,84	16,88	71,59	285,71
20,87	19,74	83,72	348,57
22,82	21,59	91,55	367,14
23,09	21,84	92,64	371,43
23,51	22,24	94,34	411,43
23,86	22,57	95,72	421,43
24,10	22,79	96,67	442,86
24,66	23,33	98,96	438,00

TABLA XXVII

ANCHURA DE LA MEMBRANA BASILAR

Gato 111

Longitud Total = 25,04 mm

Localización		Localización en función del porcentaje de la longitud coclear	Anchura
Real	Normalizada		
mm		%	µm
0,74	0,69	2,95	118,57
1,63	1,54	6,52	140,00
2,35	2,22	9,40	144,28
3,50	3,29	13,96	160,00
6,45	6,07	25,74	202,80
7,64	7,19	30,49	214,28
8,59	8,09	34,30	208,57
9,83	9,26	39,23	200,00
11,35	10,69	45,33	234,28
12,34	11,63	49,28	242,85
13,52	12,73	53,98	250,28
15,51	14,61	61,92	258,97
17,06	16,07	68,12	268,57
19,18	18,06	76,57	311,43
23,20	21,86	92,65	364,28
24,51	23,09	97,87	420,00
24,83	23,39	99,16	400,00

TABLA XXVIII

ANCHURA MEDIA DE LA MEMBRANA BASILAR

MICROSCOPIA DE CONTRASTE DE FASE

Localización en función del porcentaje de la longitud coclear		Anchura media
%	% medio	µm
1, 53 ± 2, 49	1, 65 ± 0, 17	105, 99 ± 13, 73
2, 50 ± 4, 99	3, 13 ± 0, 17	123, 33 ± 5, 01
5, 00 ± 7, 49	6, 59 ± 0, 97	138, 21 ± 9, 57
7, 50 ± 9, 99	8, 76 ± 0, 69	145, 45 ± 2, 07
10, 00 ± 14, 99	13, 46 ± 1, 51	167, 32 ± 11, 95
15, 00 ± 19, 99	17, 37 ± 2, 18	179, 85 ± 2, 36
20, 00 ± 24, 99	23, 16 ± 1, 25	192, 14 ± 7, 14
25, 00 ± 29, 99	26, 02 ± 0, 27	196, 17 ± 7, 16
30, 00 ± 34, 99	31, 98 ± 1, 52	206, 32 ± 10, 03
35, 00 ± 39, 99	36, 83 ± 2, 15	218, 85 ± 21, 04
40, 00 ± 44, 99	42, 30 ± 2, 15	233, 13 ± 10, 75
45, 00 ± 49, 99	48, 21 ± 1, 76	237, 99 ± 9, 34
50, 00 ± 54, 99	52, 57 ± 1, 98	249, 42 ± 1, 20
55, 00 ± 59, 99	59, 01 ± 0, 36	251, 97 ± 4, 59
60, 00 ± 64, 99	62, 50 ± 0, 64	256, 88 ± 6, 14
65, 00 ± 69, 99	67, 96 ± 0, 44	271, 90 ± 5, 77
70, 00 ± 74, 99	73, 12 ± 1, 55	284, 85 ± 1, 74
75, 00 ± 79, 99	77, 77 ± 1, 70	317, 86 ± 9, 09
80, 00 ± 84, 99	82, 46 ± 1, 19	338, 30 ± 11, 20
85, 00 ± 89, 99	87, 13 ± 2, 38	346, 42 ± 13, 13
90, 00 ± 92, 49	91, 57 ± 0, 03	383, 57 ± 23, 23
92, 50 ± 94, 99	93, 62 ± 0, 91	398, 16 ± 33, 18
95, 00 ± 97, 49	96, 16 ± 0, 47	418, 19 ± 26, 43
97, 50 ± 99, 16	98, 58 ± 0, 46	408, 85 ± 22, 53

TABLA XXIX

INCREMENTO DE LA ANCHURA DE LA MEMBRANA BASILAR

A LO LARGO DEL CONDUCTO COCLEAR

MICROSCOPIA DE CONTRASTE DE FASE

Localización % de la longitud coclear	Anchura media		Pendiente
	mm	μm	$\mu\text{m} / \text{mm}$
1,65 \pm 0,17	0,38 \pm 0,60	105,99	49,54
3,13 \pm 0,17	0,73 \pm 0,05	123,33	17,02
7,80 \pm 1,38	1,84 \pm 0,46	142,23	17,60
15,14 \pm 2,66	3,57 \pm 0,88	172,69	9,71
24,39 \pm 1,77	5,75 \pm 0,59	193,86	6,73
33,44 \pm 2,83	7,89 \pm 0,94	208,28	9,77
45,25 \pm 3,62	10,68 \pm 1,20	235,56	5,85
56,43 \pm 3,67	13,31 \pm 1,22	250,95	6,21
64,84 \pm 2,96	15,30 \pm 0,98	263,32	14,53
74,98 \pm 2,90	17,69 \pm 0,96	298,05	19,68
84,33 \pm 2,94	19,90 \pm 0,98	341,55	25,65
93,17 \pm 1,20	21,98 \pm 0,40	394,91	32,78
96,16 \pm 0,47	22,69 \pm 0,15	418,19	-16,38
98,58 \pm 0,46	23,26 \pm 0,15	408,85	

5.2.4. Factores de corrección

El ángulo que forma el plano del eje mayor de las tres células ciliadas externas con el radial de la mb se midió, mediante un estudio de superficie, en dos de los cinco especímenes procesados con la técnica de microscopía de contraste de fase. Las Tablas XXX y XXXI recogen, respectivamente, los resultados obtenidos en cada animal, que se expresan en función del milímetro normalizado para una longitud coclear estándar de 23,60 mm. En ellas también se incluyen los valores correspondientes a su coseno, cuyo conocimiento posee un gran interés pues representa el factor cuantitativo que se debe aplicar a las determinaciones realizadas en el plano celular para transformarlas en estrictamente radiales. Ambos estudios demuestran que este ángulo agudo se caracteriza por presentar una gran variabilidad, tanto individual como a lo largo del cc. Pero, a pesar de este hecho, su máxima amplitud siempre se encontró a la altura de los primeros milímetros basales de la cóclea.

El ángulo medio se estableció hallando la media aritmética de las medidas comprendidas en cada milímetro de distancia, entre los $1,47 \pm 0,40$ y $22,50 \pm 0,00$ mm. Sin embargo, no siempre se pudo adoptar esta periodicidad espacial debido a la insuficiencia de datos en algunas zonas, en cuyo caso la información se incluyó dentro del intervalo contiguo que más se aproximaba cuantitativamente (Tabla XXXII). Este ángulo formado entre las células ciliadas externas y la mb muestra una disminución variablemente progresiva desde las proximidades de la vr hasta la porción alta de la spb, donde experimenta un discreto ascenso. Su valor es inestable en la región limítrofe con la spm y comienzo de ésta, aunque tiene tendencia a hacerse menos agudo. A nivel del área de los 16 mm presenta un acusado aumento alcanzando casi los 20° que rápidamente disminuyen a $11,87^\circ$ en el milímetro siguiente, mínimo que se mantiene a través de la parte alta de la spm. El paso a la spa se acompaña de un nuevo incremento de su tamaño que continúa agran -

dandose a lo largo de ella. Frente a estos datos existen dos hechos que llaman poderosamente la atención. Por un lado, sorprende encontrar un ángulo más pequeño en la porción alta de la cóclea que en la base, considerando que la disposición celular al ser mucho más regular en esta última hacía suponer unos resultados totalmente diferentes a los hallados. Y por otro lado, destaca el brusco cambio que se produce en la progresión angular a la altura del área de los 16 mm coincidiendo a su vez, con un marcado ensanchamiento de la mb (Ap. 5.2.3.). En la zona de la vr y del extremo apical su valor se determinó indirectamente, asumiendo que a su nivel existía un incremento similar al de las porciones vecinas. De esta forma se obtuvo un ángulo máximo de $27,33^\circ$ en la primera y de $16,66^\circ$ y $17,14^\circ$, en los milímetros 23 y 23,60, respectivamente.

El coseno de este ángulo agudo por el contrario, experimenta alteraciones completamente opuestas a las descritas a lo largo del cc y se encuentra más cerca de la unidad en la spm alta que en las proximidades de la vr (Tabla XXXII). Su inclusión en las mediciones de la anchura de la mb procedentes del estudio de microscopía electrónica de transmisión permitió eliminar el error cometido al considerar radial el plano del eje mayor de las células ciliadas externas. La modificación introducida en este parámetro se analizó en función de las características cuantitativas y cualitativas que presentaba antes de su corrección (Ap. 5.2.2.). Por este motivo, los datos se enmendaron individualmente, aplicando el factor que les correspondía según su localización coclear. La media se estableció entre los 5 y 21 mm, hallando la recta de regresión para cada dos posiciones de medida situadas en regiones consecutivas del conducto y así se formaron cuatro segmentos, cuyo reparto longitudinal es idéntico al que ya tenían con anterioridad (Tabla - XXXIII). Al comparar la razón de su incremento radial (S) con los valores obtenidos en las determinaciones previas (Tabla XIX) se advierte que aunque existe una cierta variación cuantitativa entre ellas, sin embargo, poseen una distribución segmentaria muy similar. La pendiente ($\mu\text{m}/\text{mm}$) siempre al

canzó unas cifras mínimas en el segmento I y máximas en el segmento IV, pero mientras en la pp aumenta de una forma persistente desde la base hasta el ápice, en la anchura total aparece una ligera disminución de la misma a la altura del segmento III, en relación con el segmento II. A nivel de los dos extremos del cc se halló sistemáticamente la media proporcional de todas las medidas comprendidas en intervalos de un milímetro de distancia.

Las Tablas XXXIV y XXXV ponen de manifiesto la anchura media alcanzada para la mb y pp respectivamente, después de introducir el factor de corrección e incluyen también la diferencia que se evidenció al cotejarlas con sus valores previos. Estos resultados se ilustran esquemáticamente en la Fig. 67 mediante tres curvas dobles. La A representa la anchura total, la B corresponde a la pp y la C expresa los cambios de la pt. Cada gráfica se compone de dos líneas, una discontinua y otra continua. La primera reproduce los datos conseguidos con la técnica de microscopía electrónica de transmisión (Figs. 64 y 65) y la segunda indica su desplazamiento al introducir el factor de corrección. Al comparar ambos trazados se comprueba que aunque este último siempre se mantiene por debajo del anterior, sin embargo no se aprecian alteraciones significativas en la forma y características generales de los mismos en ninguno de los tres parámetros analizados. Por lo tanto su descripción cualitativa es semejante a la efectuada en el Ap. 5.2.2. . En cambio su distinta pendiente conlleva la aparición de claras variaciones cuantitativas entre ellos en toda la longitud coclear.

Los valores máximos y mínimos de cada una de las seis curvas de la Fig. 67 así como las relaciones que establecen se recogen en la Tabla XXXVI. En ella se aprecia que la anchura de la mb aumenta en realidad - 3,86 veces entre la vr y el área de los 22 mm, donde se localiza su mayor

- 144 -

ensanchamiento y 3,65 veces entre ambos extremos de la cóclea, en lugar de las 3,55 y 3,39 veces que respectivamente se obtuvieron en las mediciones previas. Este incremento no afecta por igual a sus dos porciones membranosas, encontrando que la pt acrecenta aproximadamente 1,6 veces más que la pp.

TABLA XXX

ANGULO DE LAS CELULAS CILIADAS EXTERNAS CON EL EJE
RADIAL DE LA MEMBRANA BASILAR

Gato 104

<u>Localización</u> <u>mm</u>	<u>Angulo</u> <u>º</u>	<u>Coseno del Angulo</u> <u>Factor de Corrección</u>
1,40	22,25	0,925
1,91	25,00	0,906
3,17	25,50	0,902
4,81	18,62	0,947
7,82	20,00	0,939
8,24	20,00	0,939
9,26	16,00	0,961
10,02	13,25	0,973
10,66	14,87	0,966
11,41	15,25	0,964
12,31	16,87	0,956
13,16	13,61	0,971
15,42	15,50	0,963
16,57	19,16	0,944
17,12	10,50	0,983
18,50	9,33	0,986
19,09	12,08	0,977
20,50	17,50	0,953
21,23	15,50	0,963
22,50	17,83	0,951

1/4

TABLA XXXI

ANGULO DE LAS CELULAS CILIADAS EXTERNAS CON EL EJE

RADIAL DE LA MEMBRANA BASILAR

Gato 105

Localización mm	Angulo °	Coseno del Angulo Factor de Corrección
1,10	32,75	0,841
2,00	29,50	0,870
2,90	22,50	0,923
3,30	25,75	0,900
4,50	21,75	0,928
5,50	21,00	0,933
6,75	17,75	0,952
7,95	19,25	0,944
9,00	20,00	0,939
9,90	20,50	0,936
10,90	15,50	0,963
12,50	18,50	0,948
13,50	14,20	0,969
14,40	15,25	0,964
15,50	15,00	0,965
16,50	19,75	0,941
17,50	13,25	0,973
18,00	14,50	0,968
19,00	12,00	0,978
20,30	12,00	0,978
21,00	11,50	0,979
21,80	19,00	0,945
22,50	14,70	0,967

TABLA XXXII

ANGULO MEDIO DE LAS CELULAS CILIADAS EXTERNAS CON EL EJE

RADIAL DE LA MEMBRANA BASILAR

Localización mm	Angulo °	Coseno del Angulo Factor de Corrección
1,47 ± 0,40	26,66 ± 5,44	0,893
2,45 ± 0,63	26,00 ± 4,94	0,898
3,23 ± 0,09	25,62 ± 0,17	0,901
4,65 ± 0,21	20,18 ± 2,21	0,938
7,25 ± 1,12	19,60 ± 1,20	0,942
9,38 ± 0,46	18,83 ± 2,46	0,946
10,74 ± 0,57	14,71 ± 1,01	0,967
12,40 ± 0,13	17,68 ± 1,15	0,952
13,33 ± 0,24	13,90 ± 0,41	0,970
15,10 ± 0,61	15,25 ± 0,24	0,964
16,53 ± 0,04	19,45 ± 0,41	0,942
17,31 ± 0,26	11,87 ± 1,94	0,978
18,25 ± 0,35	11,91 ± 3,65	0,978
19,04 ± 0,06	12,04 ± 0,05	0,978
20,40 ± 0,14	14,75 ± 3,88	0,967
21,34 ± 0,41	15,33 ± 3,75	0,964
22,50 ± 0,00	16,26 ± 2,21	0,959

TABLA XXXIII

ANCHURA MEDIA DE LA MEMBRANA BASILAR Y DE LA PARS PECTINATA
AL INTRODUCIR EL FACTOR DE CORRECCION EN LAS MEDICIONES
OBTENIDAS CON MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION

EQUACION DE LA RECTA DE MINIMOS CUADRADOS

$$Y = B + (X.S)$$

Y : Anchura membranosa (μm)

B : Intersección (μm)

X : Localización coclear (mm)

S : Pendiente (μm/mm)

		Membrana Basilar	Pars Pectinata
SEGMENTO I	B:	141,14	89,00
6,00 ± 0,70 mm			
9,33 ± 0,68 mm	S:	6,80	3,15
SEGMENTO II	B:	117,13	75,62
-12,91 ± 0,86 mm	S:	9,29	4,61
SEGMENTO III	B:	119,29	73,13
-17,71 ± 0,69 mm	S:	9,13	4,88
SEGMENTO IV	B:	90,56	17,69
-19,91 ± 0,86 mm	S:	11,02	8,20

TABLA XXXIV

VARIACION CUANTITATIVA DE LA ANCHURA MEDIA DE LA MEMBRANA
BASILAR AL INTRODUCIR EL FACTOR DE CORRECCION EN LAS MEDI-
DAS OBTENIDAS CON MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION

Localización	Anchura previa	Factor de corrección	Anchura corregida	Diferencia cuantitativa
mm	μm		μm	μm
V.R. (')	106,00	0,888	94,12	11,88
1,00	126,00	0,893	112,51	13,49
2,00	145,50	0,898	130,65	14,85
3,00	169,26	0,901	152,50	16,76
4,00	177,45	0,938	166,44	11,01
5,00	186,90	0,942	175,14	11,76
6,00	193,48	0,942	181,94	11,54
7,00	200,06	0,942	188,74	11,32
8,00	206,64	0,942	195,54	11,10
9,00	213,22	0,946	202,34	10,88
10,00	219,80	0,967	209,14	10,66
11,00	229,70	0,967	219,32	10,38
12,00	238,44	0,952	228,61	19,83
13,00	247,18	0,970	237,90	9,28
14,00	255,92	0,964	247,19	8,73
15,00	264,55	0,964	256,24	8,31
16,00	272,92	0,942	265,37	7,55
17,00	283,26	0,978	277,90	5,36
18,00	295,57	0,978	288,92	6,65
19,00	307,88	0,978	299,94	7,94
20,00	320,19	0,967	310,96	9,23
21,00	332,50	0,964	321,98	10,52
22,00	377,00	0,964	363,42	13,58
23,00	365,00	0,958	356,74	15,33
23,60	360,00	0,955	343,80	16,20

(') V.R. : Ventana Redonda

TABLA XXXV

VARIACION CUANTITATIVA DE LA ANCHURA MEDIA DE LA PARS PECTI -
NATA AL INTRODUCIR EL FACTOR DE CORRECCION EN LAS MEDIDAS
OBTENIDAS CON MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION

Localización	Anchura previa	Factor de corrección	Anchura corregida	Diferencia cuantitativa
mm	μm		μm	μm
V.R. (')	75,00	0,888	66,60	8,40
1,00	82,50	0,893	73,67	8,83
2,00	93,50	0,898	83,49	10,01
3,00	104,76	0,901	94,38	10,38
4,00	109,61	0,938	102,81	6,80
5,00	111,71	0,942	104,75	6,96
6,00	114,70	0,942	107,90	6,80
7,00	117,69	0,942	111,05	6,64
8,00	120,68	0,942	114,20	6,48
9,00	123,67	0,946	117,35	6,32
10,00	128,23	0,967	120,50	7,73
11,00	132,47	0,967	126,33	6,14
12,00	136,71	0,952	130,94	5,77
13,00	140,95	0,970	135,55	5,40
14,00	145,19	0,964	140,16	5,03
15,00	151,05	0,964	146,33	4,72
16,00	155,48	0,942	151,21	4,27
17,00	159,91	0,978	157,09	2,82
18,00	169,07	0,978	165,29	3,78
19,00	178,17	0,978	173,49	4,68
20,00	187,27	0,967	181,69	5,58
21,00	196,37	0,964	189,89	6,48
22,00	234,00	0,964	225,57	8,43
23,00	230,00	0,958	220,34	9,66
23,60	227,00	0,955	216,78	10,22

(') V.R. : Ventana Redonda

TABLA XXXVI

VARIACION CUANTITATIVA DE LOS VALORES MAXIMOS Y MINIMOS DE LA ANCHURA DE LA MEMBRANA BASILAR AL INTRODUCIR EL FACTOR DE CORRECCION EN LAS MEDIDAS OBTENIDAS CON MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION

	Anchura Total		Pars Pectinata		Pars Tecta	
	Previa µm	Corregida µm	Previa µm	Corregida µm	Previa µm	Corregida µm
MINIMO	106,00	94,12	75,00	66,60	31,00	27,52
MAXIMO	377,00	363,42	234,00	225,57	143,00	137,85
E. A.P. (*)	360,00	343,80	227,00	216,78	133,00	127,01
	Factor de Aumento					
MAX / MIN	3,55	3,86	3,12	3,38	4,61	5,00
E. A.P. (*) / MAX	0,00	0,00	0,00	0,25	4,29	4,61

(*) E. A.P. : Extremo Apical

5.2.5. Análisis global de los resultados

Las variaciones de la anchura de la mb, a lo largo del cc difieren cuantitativamente en función del método empleado para su determinación, como puede apreciarse en la Tabla XXXVII. En ella aparecen tres columnas de datos, ordenadamente dispuestos según su localización coclear, que representan la media de las mediciones obtenidas con cada una de las técnicas utilizadas. La primera corresponde a los resultados de microscopía electrónica de transmisión, tras la introducción del factor de corrección. La segunda muestra las medidas alcanzadas en el examen de superficie realizado con el microscopio de contraste de fase, y cuya distancia exacta se fijó aplicando el incremento adecuado en relación con su posición longitudinal. La tercera y última serie recoge la información lograda con microscopía óptica y se extiende únicamente desde el milímetro 7 al 21, debido a la limitación que imponen las secciones paralelas al eje del modíolo para efectuar cualquier tipo de estudio en el plano radial de la cóclea (Ap. 4.2.6.2.). El análisis estadístico de estos tres valores medios demuestra, mediante el test de Mann - Whitney, que las diferencias cuantitativas observadas no son significativas para un nivel de confianza del 95%. Por otra parte, se estableció que las modificaciones experimentadas por la anchura de la mb entre su origen basal y el milímetro 22, se ajustan a una línea recta tanto en las determinaciones de microscopía electrónica de transmisión como en las de contraste de fase, con un error típico de la estima de 9,75 y 10,15 μm , respectivamente. La ecuación $Y = 10,14 \mu\text{m/mm} \cdot X + 111,32 \mu\text{m}$ corresponde a las primeras y la $Y = 11,09 \mu\text{m/mm} \cdot X + 116,49 \mu\text{m}$ a las segundas, siendo Y la medida radial de la mb y X el mm que indica su situación espacial en la cóclea. Los coeficientes de correlación, 0,968198 y 0,968768, existentes entre la anchura de la mb y la distancia a la vr, para estos dos grupos de mediciones, tampoco son significativamente diferentes.

La representación gráfica de los datos expuestos en la Tabla -

XXXVII da origen a las tres curvas superiores de la Fíg. 68, cuya forma y características generales son muy similares. En todas se observa un ensanchamiento progresivo e inestable de la mb desde su extremo basal hasta las proximidades del área opuesta, donde se localiza su máxima amplitud. A pesar de estos rasgos comunes se advierte sin embargo, que existen también ciertas diferencias cuantitativas entre ellas, sobre todo a la altura de la spa. Este predominio regional no resulta extraño, ya que en esta zona del ápice siempre se encontró una mayor variabilidad individual de las medidas en relación con el resto de la cóclea. Las gráficas correspondientes a las determinaciones de microscopía electrónica de transmisión y óptica se superponen en gran parte de su trayecto, mientras que la procedente del estudio de superficie se mantiene consistentemente por encima de las anteriores en el eje "y" de coordenadas. Con el fin de investigar estas pequeñas desviaciones inherentes al método empleado, se efectuó un análisis comparativo de estos tres resultados, tomando como referencia los obtenidos con microscopía de contraste de fase. Estos se escogieron como patrón de la anchura de la mb por considerar que eran los más precisos de todos debido a que la técnica de superficie, además de ser excelente para realizar mediciones de este parámetro a cualquier nivel del conducto, introduce menos factores de variación que las otras dos utilizadas (Ap. 4.4.4.2.). La Tabla XXXVIII refleja en μm y $\mu\text{m} \%$ las alteraciones cuantitativas encontradas en dicho examen.

Las medidas obtenidas con la técnica de microscopía electrónica de transmisión muestran en relación a los datos patrón, un porcentaje diferencial superior a $10\mu\text{m}$ en la región apical y en los dos milímetros contiguos a la vr, mientras que en el área restante es inferior a $7,5\mu\text{m}$, exceptuando la zona de transición entre las porciones alta y baja de la spb, donde aumenta discretamente (Tabla XXXVIII). El origen de estas discordancias en la anchura de la mb debe buscarse en etapas posteriores a la de preparación de la cóclea, ya que las previas son comunes para ambos métodos.

Ahora bien, entre esta fase y los resultados finales concurren una serie de variables, generalmente inevitables, que justifican ampliamente las diferencias observadas. En principio, cabe destacar la posibilidad de que al situar las piezas sobre el cocleograma estándar se produzca un cierto grado de desplazamiento en la posición real de los puntos de medida, estimándose que nunca llega a sobrepasar ± 1 mm. Esta probabilidad, que no existe en la técnica de superficie, adquiere una especial importancia a nivel de los dos extremos del cc, donde la pendiente del incremento de la anchura de la mb es máxima, provocando intensos cambios de la misma en distancias muy cortas. Por otra parte, también hay que considerar las propias limitaciones del microscopio electrónico de transmisión, cuyo sistema óptico introduce una cierta variación entre el tamaño real de la estructura examinada y el alcanzado en la pantalla de observación. Este déficit en la reproducción exacta del aumento requerido ocurre igualmente al ampliar las fotografías durante el proceso de revelado. Otra causa de error que siempre acompaña a este tipo de estudios microscópicos, es la distorsión de la imagen en la periferia del campo analizado y este hecho puede dar lugar a pequeñas imperfecciones en el montaje del material fotográfico. Todos los aspectos anteriormente comentados constituyen las variables más significativas del método de microscopía electrónica de transmisión cuya asociación explica sobradamente la presencia de alteraciones cuantitativas entre sus medidas y las del estudio de superficie.

La técnica de microscopía óptica tiene el gran inconveniente de no permitir que se realicen mediciones en el plano radial de la mb a nivel de los 6 primeros milímetros basales ni de los últimos 2,5 mm apicales, por las razones expuestas en el Ap. 4.2.6.2. . Esta restricción impide alcanzar una información muy valiosa sobre la evolución de dicho parámetro a lo largo del conducto ya que sus cambios más intensos ocurren a la altura de estas regiones cocleares omitidas. Los resultados obtenidos muestran, en relación a los datos patrón, un porcentaje diferencial inferior a 7,5 μ m en las porcio-

nes bajas de las espiras basal y media, así como en el área de los 18 mm, - mientras que en las zonas restantes es superior a $9\mu\text{m}$ (Tabla XXXVIII). El distinto método empleado en la preparación histológica de la cóclea puede de terminar, por si mismo, la aparición de estas discordancias en la anchura de la mb. El de microscopía óptica precisa para su desarrollo de 3 a 4 me - ses, en contraposición con los cinco días requeridos por el de contraste de fase y a diferencia de éste posee una larga fase de decalcificación que es im prescindible para proceder al corte ulterior de las estructuras óseas. El - hueso temporal por lo tanto, mantiene un contacto prolongado con las diver - sas soluciones utilizadas, cuya acción sobre sus elementos tisulares aún no se conoce en profundidad. Schuknecht (181) estima que la sola fase de fija - ción ya produce una retracción del 10% en la mayoría de los tejidos y del 50 % en algunas membranas como la tectoria y la otolítica.

La modificación de tamaño experimentado por la mb al final de este proceso histológico es una variable cuantitativamente desconocida en el mo - mento actual aunque, por las características de la técnica empleada, se pue de deducir la presencia de alteraciones más acusadas en este estudio que en el de superficie. Por otra parte existe la probabilidad de introducir un cier to grado de error al determinar su anchura con el microscopio óptico, debi - do a que la distancia radial es superior a la longitud de la regla situada en el ocular y esto obliga a practicar desplazamientos y mediciones sucesivas de la sección para obtener su valor total. Aunque los puntos de superposi - ción se identificaron mediante referencias morfológicas, sin embargo no se descarta la posibilidad de originar, con relativa frecuencia, pequeñas des - viaciones en la localización de los mismos. En principio, esta imprecisión se trató de paliar usando el objetivo microscópico de menor aumento, pero hubo que desecharlo posteriormente por encontrar grandes dificultades para definir con exactitud los límites de la mb o de cualquier otra zona situada a través de ella y simplemente se redujo hallando la media aritmética de las medidas que, en repetidas veces, se establecieron para cada posición. Enl

dentemente, el método de microscopía óptica proporciona suficientes factores de variación para justificar las diferencias observadas entre sus resultados y los procedentes del estudio de superficie.

La anchura de la pp únicamente se pudo determinar con las técnicas de microscopía óptica y electrónica de transmisión por lo que sus mediciones se acompañan de las limitaciones y variables reseñadas para cada una de ellas en los párrafos anteriores. Estos resultados se representaron gráficamente en función de la longitud coclear, obteniendo las dos curvas inferiores de la Fig. 68, cuyas características tanto cuantitativas como cualitativas son muy similares. En ambas se constata la existencia de un ensanchamiento variablemente progresivo de dicha porción membranosa a medida que se aleja de la vr. Estos cambios, aunque muestran un gran paralelismo con los presentados por la anchura total de la mb, son sin embargo mucho menos intensos que aquellos.

TABLA XXXVII

VARIACION CUANTITATIVA DE LA ANCHURA DE LA MEMBRANA
BASILAR EN FUNCION DEL METODO DE ESTUDIO

Localización	M. E. de Transmisión	M. C. de Fase	M. Optica
mm	μm	μm	μm
V. R. (')	94, 12	87, 17	--
1, 00	112, 51	127, 92	--
2, 00	130, 65	145, 04	--
3, 00	152, 50	162, 65	--
4, 00	166, 44	176, 86	--
5, 00	175, 14	186, 57	--
6, 00	181, 94	195, 54	--
7, 00	188, 74	202, 28	197, 02
8, 00	195, 54	209, 35	201, 15
9, 00	202, 34	219, 13	205, 28
10, 00	209, 14	228, 91	209, 41
11, 00	219, 32	237, 43	213, 54
12, 00	228, 61	243, 28	217, 67
13, 00	237, 90	249, 13	228, 43
14, 00	247, 19	255, 23	241, 38
15, 00	256, 24	261, 45	254, 33
16, 00	265, 37	273, 49	265, 12
17, 00	277, 90	288, 02	274, 14
18, 00	288, 92	304, 15	283, 16
19, 00	299, 94	323, 83	294, 59
20, 00	310, 96	344, 11	310, 30
21, 00	321, 98	369, 76	326, 01
22, 00	363, 42	395, 56	--
22, 69	--	418, 19	--
23, 00	349, 67	413, 12	--
23, 60	343, 80	403, 28	--

(') V. R.: Ventana Redonda

TABLA XXXVIII

VARIACION CUANTITATIVA DE LA ANCHURA MEMBRANOSA ENTRE LAS
MEDICIONES DEL ESTUDIO DE SUPERFICIE Y LAS DE MICROSCOPIA
ELECTRONICA DE TRANSMISION Y MICROSCOPIA OPTICA

Localización	M.E. de Transmisión		M. Optica	
	mm	μm %	μm	μm %
V.R. (')				
1,00	-6,95	-7,38	--	--
2,00	15,41	13,69	--	--
3,00	14,39	11,01	--	--
4,00	10,15	6,65	--	--
5,00	10,42	6,26	--	--
6,00	11,43	6,52	--	--
7,00	13,60	7,47	--	--
8,00	13,54	7,17	5,26	2,66
9,00	13,81	7,06	8,20	4,07
10,00	16,79	8,29	13,85	6,74
11,00	19,77	9,45	19,50	9,31
12,00	18,11	8,25	23,89	11,18
13,00	14,67	6,41	25,61	11,76
14,00	11,23	4,72	20,70	9,06
15,00	8,04	3,25	13,85	5,73
16,00	5,21	2,03	7,12	2,79
17,00	8,12	3,05	8,37	3,15
18,00	10,12	3,64	13,88	5,06
19,00	15,23	5,27	20,99	7,41
20,00	23,89	7,96	29,24	9,92
21,00	33,15	10,66	33,81	10,89
22,00	47,78	14,83	43,75	13,41
23,00	32,14	8,84	--	--
23,60	63,45	18,14	--	--
	59,58	17,30	--	--

(') V.R.: Ventana Redonda

5.3. Grosor de la membrana basilar

El grosor de la mb está en relación directa con la distribución coclear de la substancia fundamental que aloja a los filamentos en su interior y con la de las células timpánicas. Las modificaciones que experimentan ambos elementos estructurales en el plano longitudinal del cc son cuantitativamente opuestas entre sí, como puede apreciarse en la Fig. 14. El máximo grosor de la substancia fundamental se determinó a la altura de la spb, en la parte alta para la pt y en la más baja para la pp. A partir de estas zonas se produce un adelgazamiento inestablemente progresivo de la misma hasta el extremo apical del conducto, donde desaparece en la casi totalidad de la pt (Tabla IV). Por el contrario, el área ocupada por las células timpánicas presenta un acusado ensanchamiento desde las proximidades de la vr, a cuyo nivel no llega a 1 μ m de espesor, hasta la región limítrofe entre las porciones alta y baja de la spm donde alcanza su máximo valor, pero una vez sobrepasado este punto disminuye de tamaño a través de los restantes milímetros de la cóclea (Tabla I).

La disposición de cada uno de estos elementos en el plano radial de la mb no es homogénea, existiendo además notables diferencias entre ellos. La especial distribución de la substancia fundamental da lugar a la aparición de dos zonas más gruesas que el resto, a lo ancho de la mb (Fig. 22). Una de ellas situada en la pt, corresponde al área del vaso espiral que desaparece completamente en los últimos milímetros apicales y cuyas mediciones incluyen el espacio abierto en su centro. La otra se encuentra entre el tercio medio y externo de la pp, mostrando una variación de 2,24 veces entre los dos extremos cocleares determinados. Aunque las células timpánicas ocupan una superficie mucho más irregular que la anterior sin embargo se advierte un mayor grosor en la franja de transición entre la pt y la pp, aproximadamente a la altura del pilar externo. Al relacionar los valores máximo y mínimo obtenidos a este nivel se establece entre ellos un factor diferencial de -

116,93 veces que se reduce a 36 cuando se consideran los dos extremos analizados del conducto. Por lo tanto, las células timpánicas no solo experimentan un aumento marcado en el plano longitudinal de la cóclea sino que además sus cambios son mucho más intensos que los establecidos para la substancia fundamental.

Toda esta información se combina en la Tabla XXXIX donde se recoge la evolución del grosor total de la mb en función de la longitud coclear. En ella se observa que este parámetro aumenta de forma variablemente progresiva desde la base hasta el comienzo de la spm alta, a cuyo nivel se obtuvo su máximo espesor, disminuyendo después de tamaño a lo largo de la porción apical. Estas modificaciones se deben sobre todo al notable incremento que desarrolla la población de células timpánicas, como ya se expuso en el párrafo anterior. En el plano radial de la mb, su mayor grosor se localizó en la zona correspondiente a la unión del tercio medio y externo de la pp, cuyos valores extremos muestran una variación de 1,99 veces que se transforma en 1,03 al relacionar los datos procedentes de las áreas iniciales y finales de la cóclea.

TABLA XXXIX

GROSOR MEDIO DE LA MEMBRANA BASILAR

Localización	PARS TECTA		PARS PECTINATA			
	Pilar Interno	Area Vaso Espiral	Pilar Externo	Células Delters	Zona máximo Grosor	Cresta Basilar
mm	μm	μm	μm	μm	μm	μm
3, 00- 4, 00	2, 74±0, 35	14, 09±1, 60	6, 53±2, 29	6, 38±0, 40	13, 31±0, 20	5, 19±0, 40
8, 00- 9, 00	4, 45±1, 24	15, 68±0, 40	7, 13±2, 36	9, 28±4, 10	13, 79±0, 65	6, 77±2, 13
13, 00-14, 00	10, 75±2, 19	17, 01±1, 78	16, 58±3, 00	18, 35±4, 02	21, 29±3, 75	8, 58±1, 43
16, 00-17, 00	14, 01±4, 24	22, 03±0, 60	20, 22±2, 40	24, 25±3, 53	26, 57±4, 30	6, 56±0, 50
18, 00-19, 00	9, 70±1, 52	15, 64±2, 61	16, 61±2, 90	16, 87±4, 16	22, 10±5, 30	8, 26±1, 20
20, 00-21, 00	9, 62±2, 80	10, 36±1, 40	13, 12±3, 40	13, 16±3, 70	19, 13±2, 40	7, 72±1, 40
22, 50-23, 60	8, 55±2, 90	6, 46±1, 60	5, 40±1, 20	5, 12±0, 30	13, 75±2, 70	3, 84±1, 70

VI. DISCUSION

VI. DISCUSION

6.0. Introducción

En la hipótesis de este estudio sobre la morfología de la mb del gato se planeó investigar tres aspectos fundamentales de la misma: A) Establecer una posible relación entre la morfología y el patrón vibratorio de la mb, analizando si la distinta localización de su máximo desplazamiento tiene un sustrato estructural característico (6.1.). B) Determinar si hay algún tipo de analogía entre los parámetros obtenidos para la mb del gato y aquellos ya descritos en otras especies de mamíferos (6.2.). C) Comprobar si existen diferencias significativas en conexión con la edad de los animales examinados (6.3.).

La presencia de algunos hallazgos sugestivos de un cierto interés obliga a introducir tres nuevos apartados, en los que respectivamente se comenta: la permeabilidad de la mb (6.4.), la importancia del vaso espiral (6.5.) y otros aspectos estructurales de la misma que no se han podido incluir en ninguno de los anteriores (6.6.).

6.1. Relación entre la morfología de la membrana basilar y su patrón vibratorio

La importancia de la mb en la selectividad mecánica de las frecuencias cocleares ha sido ampliamente reconocida desde hace más de un siglo. Ya en 1863 Helmholtz (85) formuló su teoría de la resonancia sugiriendo que cada tono audible tenía un lugar de acción específico en la mb, cuyas fibras actuaban como resonadores afinados a la perfección. Por otro lado Hurst (91) en 1895, defendió la existencia de una onda de desplazamiento sistémica y progresiva que provocaba una estimulación local a través de su recorrido. A partir de esta época surgen numerosas hipótesis y teorías que

apoyándose en una u otra idea tratan de explicar las complejas peculiaridades de la mecánica coclear (Ap. 3.3.). Dicha controversia se mantuvo hasta que von Békésy (17, 18, 19, 20) comprobó de forma directa que todo estímulo sonoro origina un movimiento vibratorio de la mb cuyo máximo desplazamiento se localiza a distintos niveles de la cóclea en función de su frecuencia: las bajas lo causan en la porción apical mientras que las altas lo sitúan en la basal. El gran significado de esta estructura en el análisis periférico de las mismas se ha reafirmado ulteriormente al comprobar que las neuronas auditivas no solo poseen distintas frecuencias características según la zona inervada sino que además su respuesta refleja periodos tonales en relación con la réplica mecánica de la mb a dichos tonos (202, 39, 108, 173).

El movimiento ondulante de la mb se produce por una transferencia de energía entre ambas rampas perilinfáticas (217). Sin embargo el patrón vibratorio está determinado, fundamentalmente, por sus propias características morfológicas, ya que a través de ellas se define el grado de rigidez de la misma (217, 205). Por lo tanto, su diferente comportamiento mecánico entre la región basal y la apical hace sospechar la presencia de variaciones estructurales a lo largo de la cóclea. Esta hipótesis ha sido demostrada en el presente estudio como puede apreciarse en la Fig. 69. Los tres elementos básicos que forman la mb del gato experimentan notables cambios cuantitativos en función de la longitud coclear. De esta forma para cada nivel se constituye un substrato morfológico específico, cuyo grado de rigidez debe ejercer una gran influencia sobre la distinta localización de la respuesta funcional.

Los experimentos de von Békésy (20) mostraron que la mb no está sometida a una tensión radial activa, aunque opone una cierta resistencia a su desplazamiento, cuya medición arrojó unos resultados cien veces superiores en la zona basal que en la apical. Probablemente "in vivo" esta diferencia sea mucho menor pues según Voldrich (208), la degeneración postmortem y la solución de lysoformo utilizada por von Békésy para fijar la cóclea, produ-

cen una serie de modificaciones físico-químicas a nivel tisular que alteran las propiedades mecánicas de la mb y aumentan su rigidez de forma considerable en relación a la existente en condiciones vitales. Esta variación en la rigidez intrínseca de la mb entre ambos extremos del cc se justifica por los cambios que conjuntamente presentan los distintos parámetros de la misma, anchura, grosor y elementos estructurales, sobre todo la porción filamentososa, a través de la longitud coclear (Fig. 69). Sin embargo, de todos ellos solo el primero ha despertado un cierto interés en este sentido.

Múltiples trabajos se han realizado sobre la anchura de la mb a partir de que Hensen (86) la midiera por primera vez en 1863. En los mamíferos se ha determinado preferentemente en humanos (215, 7), en cobayas (76, 151, 61) y en murciélagos (155, 156, 157, 158, 160, 28, 53, 212, 87, 164, 30, 191). La única información encontrada acerca de dicho parámetro en el gato procede de Igarashi y cols. (92), cuyas mediciones corresponden a la porción de cc comprendida entre los 5 y 20 mm de la vr. En sus conclusiones refieren que existe un aumento constante del mismo desde la spb a la apical sin especificar los valores obtenidos en cada posición.

En el presente estudio también se comprueba que la anchura de la mb del gato experimenta un ensanchamiento progresivo a lo largo de la cóclea. Su zona más estrecha, 87,17 μ m, se localiza a nivel de la vr y la más ancha, 418,19 μ m, en el área de los 22,70 mm pues a partir de este punto disminuye de amplitud, alcanzando 403,28 μ m en el último milímetro apical. La relación que existe entre sus valores máximo y mínimo representa un factor de unas 4,80 veces que se transforma en 4,62 si se establece entre ambos extremos del conducto. Este incremento sin embargo no se produce de forma gradual (Tabla XXIX) sino que muestra una progresión parabólica, lineal o exponencial dependiendo del segmento coclear analizado (Figs. 66 y 69). Las variaciones de la anchura de la mb en los 5 primeros milímetros basales se pueden simbolizar en función de la parábola $W = -2,98 L^2 + 33,79$

$L + 90,53$ con un coeficiente de correlación del 0,99, siendo W la anchura de la mb y L su posición de medida, entre los 5 y los 15 mm corresponden a la función lineal $W = 7,64 L + 149,86$ con un coeficiente de correlación del 0,98 y desde los 15 hasta los 22,70 mm se representan por la función exponencial $W = 102,19 e^{0,06 L}$ con un coeficiente de correlación del 0,99. Estas diferencias en la pendiente de su incremento son las responsables del brusco aumento inicial y del acusado cambio que se advierte a la altura de los 15-16 mm, en relación con el área comprendida entre 1 y 2 kHz según las escalas de frecuencia desarrolladas por Koenig (115) y Schuknecht (181).

El ensanchamiento que presenta la mb a través de la longitud coclear no afecta por igual a sus dos porciones, la pt y la pp. Helmholtz (85) basándose en las mediciones de Hensen (86) lo atribuye de un modo casi exclusivo a las modificaciones que se producen en la zona externa de la misma. Pero, contrariamente a su opinión, en el actual estudio se demuestra que la anchura de la pt experimenta a lo largo del cc, un incremento 1,6 veces superior al de la pp. En cambio, desde el punto de vista cualitativo, no se aprecian diferencias significativas en la evolución de los dos parámetros, aunque los cambios del primero son, en general, más homogéneos que los del segundo (Fig. 65). Este gran aumento radial de la pt puede que tenga una cierta importancia por su posible influencia en el mecanismo de estimulación de las células ciliadas internas puesto que se encuentran situadas justo por encima de ella. El interés de este hallazgo se acrecienta al considerar que estos elementos sensoriales se han identificado como segundo filtro en el proceso de selectividad periférica de las frecuencias cocleares (174, 133, 72).

Los filamentos radiales de la mb probablemente también contribuyen y de una forma muy notable, a determinar la resistencia intrínseca de esta estructura frente a cualquier tipo de desplazamiento, a pesar de que no se haya demostrado una tensión lateral activa a su nivel. Aunque la densidad

filamentosa en los haces no se modifica a través de la cóclea (1430 ± 250 F/ μm^2) existe sin embargo una marcada reducción del número de filamentos que se localizan en el espesor de la substancia fundamental desde la base hasta el ápice (Tabla IX y Fig. 69). En la spb baja se contabilizaron unos 6000 F/ μm de longitud aproximadamente, cuya cifra contrasta con los 500 F/ μm obtenidos en el último milímetro de la región apical (Tabla X). Estos datos indican que el área ocupada por ellos presenta una variación de casi 12 veces entre los dos extremos analizados del cc, respectivamente situados a los 4 y 23 mm de la vr. Plotz y Perlman (1953) también observaron en el murciélago que la porción filamentosa de la mb era mucho más delgada en la spa que en la spb, pero no llegaron a establecer la diferencia cuantitativa existente entre ambas.

El grosor de la mb también debe desempeñar un cierto papel en la aparición de las variaciones que, a lo largo del cc, presenta el patrón vibratorio de la misma. Este parámetro muestra un aumento progresivo y variable desde la base hasta el comienzo de la spm alta, donde localiza su máximo valor, sin embargo una vez sobrepasado este punto disminuye paulatinamente a través de los restantes milímetros cocleares (Tabla XXXIX y Fig. 14). Así en la spb baja, la mb posee una anchura y un espesor mínimos; pero mientras las células timpánicas constituyen una delgada capa situada muy próxima a la substancia fundamental adyacente, el grosor de este último elemento membranoso no solo es máximo sino que además se halla ocupado en su casi totalidad por los filamentos, cuyo número por μm de longitud es doce veces mayor al obtenido en el extremo apical (Fig. 69). Todas estas características morfológicas conducen a que la mb adquiera un aspecto compacto y en gran parte determinan la enorme resistencia intrínseca de esta estructura a nivel de la base. Por el contrario en la región apical destaca la laxa distribución de las células timpánicas donde constituyen su principal componente, aunque aún se desconoce la posible relación que puedan tener con la rigidez de la mb. A su altura se distinguen tres o más estratos de núcleos

celulares rodeados por numerosísimas prolongaciones que se disponen sin un orden fijo en el interior de la perilinfa, existiendo abundantes espacios líquidos entre ellas (Fig. 16). En esta zona, aparentemente la más frágil de la mb pues la substancia fundamental tiene un espesor muy pequeño e incluso desaparece en algunas áreas y los filamentos son pocos numerosos (Fig. 69), parece como si las células timpánicas formaran una especie de soporte flexible, que podría actuar a modo de cojín protector absorbiendo el exceso de energía producido por las vibraciones de gran intensidad.

Steele (199, 200) postuló que el grosor de la substancia fundamental no solo contribuía a aumentar la rigidez de la mb sino que además determinaba su forma vibratoria. Asumió que tanto la pt como la pp estaban firmemente sujetas a estructuras óseas, pero mientras la primera actuaba como un brazo de palanca, la segunda mostraba una mayor movilidad, siendo el pie lateral del pilar externo la bisagra entre ambas zonas. En apoyo de esta hipótesis se encuentran las observaciones de Tonndorf y cols. (207) sobre los filamentos de la mb que después de formar un abanico de finas fibrillas, terminan perdiéndose en el interior del ligamento espiral y en el labio timpánico del limbo espiral, pero algunos de estos últimos logran fijarse en la lámina espiral ósea. Las mediciones efectuadas en el presente estudio, tomando esta estructura como referencia interna de la anchura de la mb, muestran que existe un marcado aumento de la misma desde la región basal a la apical y la pendiente de su incremento es mucho más acusada a la obtenida en las demás determinaciones (Tabla XV). En consecuencia, aparece una mayor variación cuantitativa entre los dos extremos analizados del conducto (Tabla XVI). Todas estas diferencias producen una gran disociación entre sus medidas y el relativo paralelismo mantenido a lo largo de la cóclea por las restantes, que se extienden hasta el pilar externo, habenula perforata y surco espiral interno (Fig. 61). Estos hallazgos indican que al progresivo ensanchamiento de los elementos membranosos se añade una gran reducción del tamaño radial de la lámina espiral ósea, a la altura de las espiras media y api

cal. En la base, esta estructura prácticamente alcanza el túnel de Cortí mientras que en el ápice, casi no llega a la zona media del limbo espiral. Es posible que esta distinta amplitud del cono filamentososo interno ejerza una cierta influencia sobre la elasticidad de la mb, aunque resulta muy difícil imaginar a las finas fibrillas terminales recorriendo una distancia tan larga y sobre todo cruzando el área de la habenula perforata. Por lo tanto, el modelo vibratorio preconizado por Steele (199, 200) y basado en el firme anclaje de la mb resulta muy poco probable excepto en la porción más basal de la cóclea.

6.2. Comparación morfométrica con la membrana basilar de otros mamíferos

En los mamíferos, la mb juega un papel muy importante en la selectividad mecánica de las frecuencias cocleares, cuya distribución en el plano longitudinal del conducto es similar para todos ellos. Así las frecuencias altas siempre se encuentran en la región basal mientras que las frecuencias bajas se disponen consistentemente en el área apical. Esta semejanza funcional sugiere la posibilidad de que exista una cierta analogía entre los parámetros morfológicos de la misma en las distintas especies animales.

Las modificaciones que presenta la anchura media de la mb del gato, del humano y del cobaya en función de la longitud coclear se representan mediante tres líneas curvas en la Fig. 70. Los datos correspondientes al humano proceden de Wever (215, 216) y los pertenecientes al cobaya se tomaron de Fernandez (61). En las tres gráficas se observa un acrecentamiento variable y progresivo de la anchura de la mb desde la base hasta el ápice, alcanzando su máximo una media espira antes del extremo apical aproximadamente y una vez sobrepasado éste poco a poco disminuye de tamaño. Aunque estas curvas tienen una forma muy parecida, se advierte sin embargo que cada una de ellas posee su propia razón de incremento. En el cobaya, la anchura de la mb experimenta un rápido aumento a través de los dos primeros mm

basales, manteniendo a continuación un ritmo de crecimiento mucho más lento y gradual. En el gato, además de este acusado cambio inicial, existen - otros dos ensanchamientos bruscos: el primero ocurre a la altura del 65-70 % de su longitud total y el segundo se produce en el milímetro previo a la posición de su máximo. En el humano también aparecen variaciones similares a las descritas, pero son mucho más intensas y marcadas.

En las tres especies, los valores mínimos de la anchura de la mb muestran una gran semejanza mientras que los máximos difieren notablemente entre sí. A nivel de la vr mide 80 μ m en el humano, 87 μ m en el gato y 70 μ m en el cobaya, cuyas correspondientes distancias radiales en la spa son 498 μ m, 418 μ m y 250 μ m. Respecto a la longitud total del cc, los datos medios utilizados fueron los siguientes: 32 mm para el humano, 23,60 mm para el gato y 18,80 mm para el cobaya, que se distribuyeron en 2 $\frac{3}{4}$, 3 $\frac{1}{3}$ y 4 espiras respectivamente.

La mb siempre localiza su zona más ancha en la región apical, donde las frecuencias bajas provocan su máximo desplazamiento. En esta zona, el análisis mecánico de las mismas tiene como límite 30 cps en el humano y 200 cps en el cobaya (18). Se debe recordar sin embargo, que estas fronteras del campo auditivo no son absolutas pues se definieron desde un punto de vista puramente mecánico y en cierto grado podrían ampliarse a través de los distintos procesos nerviosos. Así en el gato, mediante estudios de conducta refleja, se estableció que este límite se extiende hasta los 62,5 cps (176).

Fleischer (66) ha sugerido que en todos los mamíferos el máximo desplazamiento originado por una determinada frecuencia siempre se halla - asociado a una misma anchura de la mb. En consecuencia, las diversas especies de esta clase animal con análoga capacidad auditiva, precisarían poseer unos valores cuantitativamente idénticos en dicho parámetro. Esta hipótesis parece poco probable sobre todo al comprobar que la anchura máxima obteni

da en el cobaya, $250\mu\text{m}$, se encuentra situada en el área correspondiente a los 13 mm de la mb del gato (Fig. 66), cuya óptima frecuencia es de 2000 a 2500 cps según la escala de Schuknecht (181). Estos resultados implicarían, si la teoría de Fleischer fuese correcta, que las frecuencias inferiores a 2000 cps no producen una respuesta mecánica en el cobaya y sin embargo, se ha demostrado que su límite llega incluso a alcanzar los 200 cps. Por lo tanto, es evidente que en este análisis mecánico de las frecuencias cocleares no solo interviene la anchura de la mb, sino también otras características morfológicas de la misma como por ejemplo el grosor y el número de los filamentos. Pero desafortunadamente no es posible efectuar un amplio examen comparativo de estas últimas en función de la especie, debido a la escasa información existente sobre la distribución espacial de sus elementos estructurales en los demás mamíferos.

En relación con el grosor de la mb solo se ha encontrado información sobre el espesor de la sustancia fundamental en el cobaya (61), en algunos otros roedores (96, 154, 161, 53, 212) y en los murciélagos (155, 156, 157, 158, 160, 28, 87, 163, 164). Todos estos estudios en general adolecen de una falta de precisión en la localización tanto radial como longitudinal de sus medidas. En el cobaya aparece un adelgazamiento progresivo de este componente membranoso a través de la longitud coclear, mostrando un máximo de $7,40\mu\text{m}$ al comienzo de la spb y un mínimo de $1,34\mu\text{m}$ en la terminación apical. Esta disminución en el tamaño del estrato intercelular desde la base hasta el ápice también se aprecia en los quirópteros, cuyo máximo valor suele oscilar entre 10 y $20\mu\text{m}$ aunque en algunos casos como los Rhinolophos e Hipposideros puede incluso sobrepasar las $50\mu\text{m}$. En el gato se obtuvieron variaciones similares a las descritas y sus valores extremos fueron de 13 y $6\mu\text{m}$ a nivel de la pp. En la mayoría de los roedores sin embargo, la zona de mayor espesor se sitúa con frecuencia a la altura de la spm y así en la rata (96) llega a alcanzar $10\mu\text{m}$ que contrastan con los 6,5 y $4\mu\text{m}$ que respectivamente se obtuvieron en la región basal y apical del cc. -

Por lo tanto, en todas las especies de mamíferos analizadas se demuestra - que existen cambios notables en el área de la substancia fundamental en función de la longitud de la cóclea y resulta sorprendente la gran aproximación tanto cualitativa como cuantitativa que existe entre el gato y los murciélagos.

El grosor de la mb del gato con sus dos elementos constituyentes, substancia fundamental y células timpánicas, se reconstruyó gráficamente en función de su anchura a seis niveles distintos del cc (Fig. 14), utilizando - una media de diez puntos por cada sección. Iurato (96) realizó unos esquemas similares de la rata, aunque en ellos solo representó la distribución radial de la substancia intercelular en las tres espiras sin precisar la localización de las mismas. Al comparar estos dos tipos de ilustraciones se advierten algunas discrepancias entre ellas, sobre todo en su disposición a través de la pt puesto que las obvias diferencias cuantitativas ya se expusieron en el párrafo anterior. Mientras la substancia fundamental del gato desaparece de la zona subyacente al pilar externo a la altura de la spm alta y en la casi totalidad de la pt cuando alcanza su extremo apical, la de la rata sin embargo, siempre mantiene un cierto grosor y en sus zonas más delgadas suele al menos oscilar entre 1 y 0,5 μ m. Por otro lado, la masa compacta correspondiente al área del vaso espiral y situada en la porción basal de ambos animales, no se visualiza a partir de la spm en la rata, mientras que el gato en cambio, muestra su prominencia a todo lo largo del cc excepto en sus últimos milímetros apicales. Respecto al espesor total de la mb no se ha encontrado ningún dato acerca de este parámetro en el humano ni tampoco en otros mamíferos.

Las alteraciones cuantitativas de las células timpánicas repercuten de un modo directo e intenso sobre el grosor de la mb y es posible que a través de su variada ordenación espacial, ejerzan una cierta influencia en la determinación de las características mecánicas de cada zona coclear y de sus modificaciones en función de la especie. En la rata, estos elementos ce-

lulares se encuentran apoyados en la superficie perilinfática de la sustancia fundamental, constituyendo un estrato único y prácticamente continuo debido al íntimo contacto que establecen mediante la superposición de sus bordes colindantes (97). Aunque la mb del cobaya muestra un aspecto muy similar al descrito en su porción basal, sin embargo a medida que se aleja de la vr adquiere una disposición mucho más laxa y así en la parte alta de la cóclea, se observan varias capas celulares rodeadas por múltiples prolongaciones libres que flotan en el interior de la rampa timpánica (198, 93, 6). La mayoría de estas células se visualizaron en el área correspondiente a la pp, donde parece localizarse la máxima amplitud del movimiento membranoso. Su distribución en el gato es semejante a la expuesta para el cobaya, aunque existen notables diferencias cuantitativas entre ambos animales. En el presente estudio se ha demostrado que la mb del gato posee muy pocas células timpánicas en las proximidades de la vr, pero su número experimenta un aumento progresivo a lo largo del cc (Figs. 17 y 18). Por el contrario - Angelborg y Engström (6) en el cobaya, obtuvieron mayor cantidad de células timpánicas en la base que en el resto de la cóclea. Kimura (112) ha reseñado que la mb de la ardilla se caracteriza por presentar diversos estratos celulares a nivel de su región basal.

La importancia de la porción filamentosa en la resistencia intrínseca de la mb es evidente, por lo tanto resulta difícil de entender el poco interés que ha despertado su valoración cuantitativa. Ya Nuel (146) en 1872 aportó algunos datos sobre el número total de filamentos de la mb cuya cifra ascendía a 54.000 en el humano, aunque también apuntó la posibilidad de hallar unos valores inferiores en el cobaya y en el conejo. Los cálculos posteriores de Retzius (167, 168) transformaron dicho resultado en 24.000 e indicaron que el gato en cambio, solo tenía 15.700. Los estudios más recientes corresponden a los realizados por Iurato (97) en la rata y en ellos determina la densidad filamentosa en los haces a nivel de la pp encontrando una media de $2.500 \text{ F}/\mu\text{m}^2$ que contrasta con la de $1430 \pm 250 \text{ F}/\mu\text{m}^2$ obtenida en el gato.

6.3. Evolución de la membrana basilar con la edad

Los distintos elementos tisulares del ser vivo sufren una serie de cambios estructurales, más o menos intensos, en el transcurso de su ciclo vital y este proceso evolutivo también afecta por supuesto a la mb. En este sentido Iurato (97, 98) ha comprobado que las células timpánicas de la rata joven, a diferencia de la adulta, son más numerosas, ocupan un área superior, forman varios estratos en el interior de la sustancia fundamental y poseen una ultraestructura mucho más compleja por el gran desarrollo de las organelas citoplásmicas. A la vista de estos datos asumió que existía un aumento de la síntesis proteica a su nivel, sugiriendo una participación celular activa en la producción y depósito de la sustancia intercelular. Por el contrario, Angelborg y Engström (6) no apreciaron en las células timpánicas del cobaya ninguna alteración, cualitativa o cuantitativa, que pudiera relacionarse con la edad del animal.

Los resultados del presente estudio concuerdan en líneas generales con esta última conclusión, aunque existen dos hallazgos de difícil y dudosa interpretación. El primero se refiere a la aparición ocasional y aislada de un núcleo celular rodeado por su citoplasma entre las capas filamentosas de la pp de los gatos jóvenes, sobre todo en la parte alta de la cóclea, sin que se acompañe de claras modificaciones en el espesor de la sustancia fundamental. El segundo punto se relaciona con el número de células timpánicas apicales aparentemente mayor en los felinos jóvenes que en los adultos, este dato sin embargo precisa de una ulterior confirmación más amplia debido a la gran variación individual encontrada en esta zona y a la distinta localización de los puntos de medida. No obstante ambas observaciones sugieren la posibilidad de que estos tres gatos, considerados como jóvenes, no sean los representantes más típicos de dicho grupo y quizás pertenezcan a un estado intermedio o de transición entre éstos y los adultos.

Todos estos cambios estructurales relacionados con el proceso evolutivo natural de la mb adquieren su máxima intensidad durante la vejez. Así en personas mayores de 60 años se ha consignado la presencia de un engrosamiento con hialinización e incluso calcificación de la mb, predominantemente en la porción basal, habiéndose sospechado que este notable aumento de su rigidez era la causa de la presbiacusia (136, 36). Por otro lado, Cowell y Rogers (35) observaron que en los cobayas de $2\frac{1}{2}$ años se producía una disminución considerable del número de células timpánicas, a través de toda la longitud de la cóclea y a excepción de la spb, en el resto del conducto cubrían de forma incompleta la superficie perilinfática de la mb. Además los microfónicos cocleares de estos cobayas seniles mostraban una reducción mayor que la atribuible a la sola alteración del órgano de Corti. La explicación más aceptada para este hallazgo se basa en admitir la existencia de lesiones conductivas asociadas y de todas ellas, las correspondientes a la mb posiblemente desempeñen el papel más importante (152). Glorig y Davis (71) obtuvieron resultados similares en el humano.

Pocos años más tarde y gracias al esfuerzo realizado por Schuknecht (178, 179, 67, 224), este tipo de hipoacusia se incorporó a la clínica bajo el término de presbiacusia conductiva aunque aún no se ha establecido el substrato anatomopatológico de la misma. Nomura (145) ha demostrado la aparición de depósitos lípidos sobre los filamentos radiales de la pp en la región basal de la mb del hombre viejo y ha calculado que la pérdida de elasticidad ocasionada por ellos, podría, en gran parte, conducir a la hipoacusia conductiva de la tercera edad. La longevidad de los felinos no permite incluir dentro de este cuadro involutivo senil, a ninguno de los gatos utilizados en el presente estudio.

6.4. Permeabilidad de la membrana basilar

La permeabilidad de la mb a los fluidos de la rampa timpánica y del

Interior del órgano de Corti se ha estudiado con una cierta amplitud durante el último cuarto de siglo, pues hasta entonces había prevalecido la idea tradicional de considerar que esta estructura constituía una barrera impermeable entre un espacio endolinfático y otro perilinfático. A pesar de existir algunas observaciones previas sobre un posible contacto de los mismos a través de la mb (2, 3), dicha hipótesis clásica solo se derrumbó por completo cuando aparecieron los primeros resultados del microanálisis químico de los líquidos cocleares (195, 196). De este modo se estableció que la endolinfa posee un alto contenido de potasio y bajo de sodio, mostrando una gran similitud con los fluidos intracelulares, mientras que la perilinfa se asemeja más a los extracelulares por presentar una concentración iónica totalmente opuesta a la anterior. Desde el punto de vista fisiológico Tasaki y cols. (203) han comprobado que el túnel de Corti no puede estar ocupado por endolinfa, pues un nivel de potasio tan elevado provocaría un bloqueo funcional de las fibras amielínicas que lo atraviesan. Por otro lado, el líquido demostrado tanto en su interior como en los espacios adyacentes de Nuel, tiene una composición química similar a la perilinfa (32, 166).

Engström, ante la imposibilidad de hallar una base embriológica o morfológica que apoyara la libre comunicación entre ambos sistemas de fluidos (49), sugirió la existencia de un tercer líquido anatómicamente independiente en los espacios extracelulares del órgano de Corti y le denominó cortilina (48). Por el contrario Schuknecht y cols. (183, 177, 184), durante sus experimentos sobre la distribución de la acetilcolinesterasa en el oído interno del gato, visualizaron un sistema de finos canales que parecen conectar la rampa timpánica con los espacios líquidos del órgano de Corti. Estos conductillos se abren en la cara inferior de la lámina espiral ósea, a unos 0,2 mm de la habenula perforata, mediante una serie de pequeñísimos orificios o canaliculos perforantes (126) que al ascender aumentan de tamaño y se sitúan entre las fibras nerviosas. Lawrence y cols. (123) consideran muy difícil que la mb permita una difusión selectiva a través de ella, debido

a la disposición estratificada de sus componentes y al notorio grosor global de los mismos.

En general se acepta que el líquido contenido en el interior del órgano de Corti es diferente de la endolinfa, pero si se identifica con la perilinfa surgen ciertas discrepancias por haber asumido una comunicación cuya realidad morfológica aún precisa de una amplia confirmación (198). Todos estos hechos han motivado la aparición de múltiples estudios tratando de determinar la permeabilidad de las distintas estructuras cocleares. El cobaya se utilizó como animal de elección para inyectar diversos colorantes orgánicos u otros compuestos químicos de variado peso molecular en el líquido cefalorraquídeo y/o en el perilinfático y/o en el endolinfático, con el fin de observar su distribución en la cóclea y así analizar el comportamiento de los elementos membranosos frente a los mismos. En principio estos trabajos se dividen en dos grupos, dependiendo de la penetración del contraste en el órgano sensorial. La mayoría de los resultados obtenidos en estos experimentos concuerdan en consignar el paso libre de las partículas desde la rampa timpánica a los espacios extracelulares del órgano de Corti, aunque muestran ciertas diferencias en relación con la ruta preferentemente seguida por cada una de ellas. Así según Tonndorf y cols. (206), de Lorenzo y cols. (128) y Jahnke (101), esta comunicación se produce a través de la mb y a lo largo de las fibras nerviosas, en cambio para Nomura (144) hay además una tercera vía de acceso constituida por el ligamento espiral, la cresta basilar y la dehiscencia existente entre las células de Hensen y las de Delters. En opinión de Ilberg y Vosteen (94) y de Duvall y Sutherland (44) sin embargo, dicho tránsito se realiza de un modo casi exclusivo por la mb, mientras que Masuda y cols. (135, 134) defienden su predominancia por la habenula perforata. El paso de las sustancias por la mb siempre fué rápido e indiscriminado sin advertirse primacía zonal alguna, sugiriendo la posibilidad de que se trate de un transporte pasivo por difusión de las mismas a su nivel.

En contraposición con las anteriores observaciones, Duvall y Quick (41), Duvall y Sutherland (43), Sando y cols. (175) y Angelborg (5) no lograron visualizar el contraste en el interior del órgano de Corti encontrando - que estaba retenido en sus estructuras colindantes. A excepción del estudio efectuado con carbón por Sando y cols. (175) y cuya impenetrabilidad atribuyeron al gran tamaño de sus moléculas, en los restantes experimentos se empleó el Thorotrast^R, conteniendo una solución de dióxido de torio al 24-26 % y no se ha demostrado la existencia de ninguna variable externa que pudiera impedir su paso hacia los espacios extracelulares del órgano sensorial. El mayor acúmulo de Thorotrast^R se localizó en el citoplasma de las células timpánicas y en menor proporción en la parte más baja de la sustancia fundamental, pero nunca llegó a alcanzar el estrato inferior de los haces filamentosos. Este gran desarrollo de la actividad fagocítica de las células timpánicas parece indicar que su función primordial es defensiva y consiste en evitar la penetración de cuerpos extraños en el cc. Así pues, al analizar la permeabilidad de la mb frente a cualquier sustancia, no solo se deben considerar aquellos factores determinantes de su transporte pasivo: tamaño, gradiente de concentración y presión de la inyección, sino también otras características físicas o químicas de las mismas que, al interferir con ciertos mecanismos celulares, provocan una quimiotaxis específica para cada una de ellas. Por lo tanto, es muy probable que los distintos elementos estructurales de la mb ejerzan una influencia activa en la selección de las partículas difundidas a su través.

Todos los gatos examinados en el presente estudio mostraron una discontinuidad de la lámina o membrana basal a nivel de las células de Hensen en la porción alta del cc, generalmente a partir del área de los 18 mm. La posibilidad de que pudiera tratarse de un artefacto, en relación con la apertura de esta zona apical durante su fase de preparación, se ha descartado al demostrar su presencia en una nueva cóclea donde no se practicó manobra traumática alguna y cuya inclusión se facilitó mediante una perfusión

lenta y continúa del Epon por la ventana oval, a lo largo de un período aproximado de 72 horas. Estas aberturas o poros de la lámina o membrana basal proveen por lo tanto, de una evidencia estructural a la libre comunicación - que se produce a través de la mb, entre la rampa timpánica y los espacios - extracelulares del órgano sensorial (206, 144, 94, 128, 44, 101). En esta región del cc por otro lado, las células timpánicas poseen una distribución muy laxa facilitando un amplio contacto de la perilinfa con la sustancia fundamental y si además se añade la delgadez de la capa filamentos superior - de la pp, así como la frecuente falta de continuidad entre sus haces, resulta evidente que la mb no representa una barrera a este nivel de la cóclea. Todas estas observaciones sugieren que dichas aberturas de la lámina o membrana basal permiten a la perilinfa circular libremente entre la rampa timpánica y el interior del órgano de Corti.

6. 5. Importancia del vaso espiral

La existencia de un vaso sanguíneo sobre la cara timpánica de la - mb a la altura del túnel de Corti, se describió primero en el embrión del conejo y un poco más tarde en el feto de gato y en el humano (167, 168), denominándosele espiral por su disposición longitudinal. Axelsson (10) prefiere el término "vaso de la membrana basilar" y así evitar una errónea interpretación terminológica, al pensar que la circulación se efectúa entre ambos extremos de la cóclea. Su presencia también se ha descubierto en el cerdo - (186), en la oveja y la ternera (187), en el perro (8), en la rata (9), en el mono y en el cobaya (139), entre otros animales e incluso se ha sugerido su posible variación morfológica en función de la especie (223). La cercanía - del vaso espiral al órgano sensorial despertó, por otro lado, múltiples hipótesis en relación con el tipo de aporte sanguíneo que se realizaba a su nivel (81, 185, 188, 189, 15). Sin embargo su origen capilar no se comprobó hasta que los estudios de Smith (192, 193) demostraron su procedencia del plexo de la lámina espiral y además permitieron observar la constante aparición

del mismo en el humano y en el cobaya, mientras en el gato solo se consiguió visualizar en seis de los ocho animales examinados.

El vaso espiral es la única estructura vascular que alcanza las proximidades del órgano de Corti y esta situación privilegiada ha determinado - que se le atribuya una participación primordial en el suministro nutricional de dicha zona, aunque existen grandes discrepancias sobre la importancia - del mismo. Lawrence (122) consignó una pérdida de células ciliadas secundaria a la interrupción selectiva del flujo circulante por el vaso espiral, sin - embargo no prueba suficientemente que la lesión estaba limitada a una sola - arteriola radial. Por el contrario, Alford y cols. (1) no advirtieron cambios celulares definidos después de embolizar el vaso de la mb. Kikuchi y Hilding (109, 110) consideraron que la involución progresiva del vaso espiral en el ratón Shaker-1, es la responsable o al menos un factor muy influyente en la posterior degeneración del área sensorial pues no evidenciaron las supuestas alteraciones de la estría vascular postuladas por Gründerg (74). En apoyo de esta hipótesis, Nakai y Hilding (142) apreciaron una gran actividad - ATP-asa en la zona granular que rodea el vaso espiral normal, sugiriendo un posible transporte activo de líquidos y electrolitos en esta región vascular. Andersson y cols. (4), por otro lado, no pudieron demostrar la presencia del vaso espiral en aquellos perros dálmatas que tenían una sordera profunda de nacimiento. También se ha descrito que la exposición al ruido intenso provoca una desaparición de eritrocitos en el vaso de la mb (124, 127) y un estrechamiento de su luz con aumento del tamaño de las células endoteliales en el trauma acústico (82, 83, 127). Estos hallazgos para Axelsson y Vertes (14) en cambio, no son patológicos ya que aparecen con cierta frecuencia en condiciones fisiológicas.

En el presente estudio, el vaso espiral solo se visualizó en dos de los seis gatos examinados con microscopía electrónica de transmisión y en - ambos casos se encontraba situado a la altura de la spa. Al relacionar esta

observación con los resultados de Retzius (167, 168), donde advierte la desaparición de esta estructura vascular a nivel de la zona coclear alta en el gato de 30 días, mientras en las fases más tempranas del desarrollo se reconoce con claridad a todo lo largo de la misma, parece evidente que el vaso espiral experimenta un proceso de involución durante su período fetal. Quizás posea una gran importancia en la vida embrionaria precisando un calibre mayor al que por lo regular requiere en las etapas más tardías de su evolución (22, 25). Así pues, la permanencia del vaso espiral en el animal adulto posiblemente deba considerarse como un vestigio embrionario.

Por otro lado, no se pudo demostrar correlación alguna entre la presencia del vaso espiral y la edad de los gatos analizados. Tampoco se obtuvo evidencia de una patología obvia en el área sensorial en ninguna porción de la cóclea. En otros mamíferos adultos suceden también hechos morfológicos similares, así en el mono (11), en el chinchilla (13) y en la rata (90) se aprecia un órgano de Corti normal coexistiendo con un vaso de la mb de aspecto rudimentario y que solo aparece de forma ocasional, aunque en el caso del conejo ni siquiera existe (12). La función del vaso espiral como única fuente en el aporte nutritivo del órgano de Corti, es por lo tanto muy dudosa en el gato adulto.

6. 6. Otros aspectos estructurales de la membrana basilar

En este Apartado se comentan aquellos hallazgos morfológicos, cuyas especiales características no permiten incluirlos en ninguno de los anteriores. Se han clasificado en tres grupos en función del elemento estructural al que pertenecen: células timpánicas (6. 6. 1.), sustancia fundamental (6. 6. 2.) y porción filamentosa (6. 6. 3.).

6. 6. 1. Células timpánicas

Los cambios descritos en el grosor de la mb se hallan íntimamente

ligados a las intensas modificaciones que experimenta la zona ocupada por las células timpánicas a través de la longitud coclear (Fig. 69). A la altura del pilar externo muestra una variación de casi 120 veces entre la spb baja y la spm alta, donde respectivamente se localiza su mínimo y máximo espesor - (Tabla I). Dicho aumento se produce sobre todo a expensas de un notable incremento en las prolongaciones celulares y, aunque su cifra no fué determinada, es evidente sin embargo que existe una gran superioridad numérica de las mismas, en relación al cómputo global de los núcleos observados (Figs. 15B, 16 y 17). Esta discrepancia en el crecimiento cuantitativo de ambos - componentes celulares, así como el claro predominio del primero sobre el segundo, sugiere la posibilidad de que estos procesos citoplásmicos se ramifiquen a lo largo de su recorrido. En el presente estudio no se pudo demostrar gráficamente esta hipótesis debido a las limitaciones que impone el examen - efectuado con el microscopio electrónico de transmisión. Pero en cambio, al analizar varias microfotografías de esta región obtenidas con la técnica de - microscopía de barrido por Bredberg y cols. (26), Angelborg y Engström (6) y Shinozaki y Miyoshi (190), se comprueba que en todas ellas se visualizan numerosas ramificaciones o bifurcaciones en las prolongaciones de las células timpánicas (Fig. 71). Por lo tanto, sorprende que ninguno de los citados autores realice comentario alguno destacando este dato estructural.

Los complejos de unión, encontrados con frecuencia en las superficies de contacto entre las células timpánicas adyacentes, poseen ciertas peculiaridades que impiden una total identificación de los mismos con los distintos tipos conocidos de unión celular. La mayor parte de sus características son semejantes a las que definen la zónula adherente (58, 59, 103, 171, 107, 5, 140), pero a diferencia de ésta muestran una distancia inferior a 100 Å - entre las hojas externas de ambas membranas plasmáticas. Nadol y cols. - (141) también los visualizaron entre las células timpánicas de la mb del lagarto, pero no pudieron determinar si existía o no fusión de las membranas a su nivel. Aunque siempre encontraron al menos un punto de contacto entre sus

prolongaciones, consideraron que cuantitativamente eran muy inferiores a los complejos de unión observados en la superficie endolinfática.

Gilula (69) ha simplificado la nomenclatura empleada para discriminar estos complejos de unión celular reuniendo en un mismo conjunto funcional aquellas especializaciones de similar ultraestructura, pues lo que en realidad los clasifica y distingue es su función específica y no la presencia de pequeñas variaciones morfológicas entre ellas, cuyo significado es nulo mientras se desconozcan sus respectivas implicaciones fisiológicas. Así con el término desmosoma engloba las uniones de tipo adherente, zónula, mácula y fascia, ya que las tres desempeñan una función común de soporte. La diferenciación de contacto observada entre las células timpánicas probablemente también deba incluirse en este tipo desmosómico, pues la no fusión en las láminas externas de las dos membranas plasmáticas y la existencia de un material electrodensito en el espacio intercelular actuando como posible cemento de unión, parecen expresar que su única función es la de fijación o de soporte.

6.6.2. Substancia fundamental

La amplia distribución de la substancia fundamental en la mb ha sido destacada por Gussen (77) que la considera el principal elemento constituyente de la misma. Por su reacción positiva con la técnica PA-Schiff ha interpretado que indicaba la presencia de unos mucopolisacáridos estructuralmente idénticos a los de la substancia amorfa, representante histológico característico de los tejidos mesodérmicos. Por lo tanto en su opinión, dicho componente membranoso pertenece al grupo de las membranas basales conectivas y apoyándose en los resultados obtenidos por Ottoson y cols. (147) en la piel de la rana, sugiere la posibilidad de que exista una estrecha relación entre la producción de los potenciales cocleares y la substancia fundamental de la mb.

En las proximidades de la superficie timpánica de la substancia fundamental aparecen con relativa frecuencia unos conglomerados muy densos de aspecto finamente granular. Su tamaño oscila de 0,5 a 1 μ m y no poseen membrana de revestimiento. La naturaleza y el significado de estas áreas es desconocido.

6.6.3. Porción filamentosa

Las propiedades íntimas de los filamentos radiales de la mb constituyen un gran enigma, ya que sus peculiares características no permiten incluirlos en ningún grupo de las estructuras filiformes conocidas hasta el momento actual. Aunque en general se supone que tienen un posible origen mesodérmico, sin embargo difieren notoriamente de la colágena y de la elastina, tanto por la composición aminoácida de sus proteínas como por sus reacciones histoquímicas (132, 97, 98). Ciges (31) opina que en el humano constan de dos fracciones distintas, una PAS positiva de naturaleza desconocida y otra de carácter elástico.

La ultraestructura de los filamentos de la mb del gato es muy similar a la descrita en el espacio perilinfático vestibular de la rata, donde se consideró que la queratina era su principal componente (78), en el ligamento espiral del macaco rhesus (201) y en la mb del cobaya (113). Pero mientras en los dos primeros estudios siempre se observó que los filamentos mantenían una estrecha asociación con los fibrocitos distanciándose rara vez más de 1 μ m, en la mb por el contrario, se ha comprobado que permanecen relativamente alejados de las células timpánicas distribuyéndose en el interior de la substancia fundamental. Por lo tanto, parece poco probable que sus proteínas filamentosas se sinteticen y secreten a nivel de estos elementos celulares, a diferencia de lo que se presume en el ligamento espiral y en el espacio perilinfático vestibular.

135

VII. CONCLUSIONES

VII. CONCLUSIONES

- 1ª. El estudio morfológico de la mb del gato ha demostrado que sus tres componentes, substancia fundamental, porción filamentosa y células timpánicas, experimentan notables cambios cuantitativos en función de su localización en el cc, constituyéndose de esta forma un substrato estructural específico para cada nivel del mismo.
- 2ª. Los tres elementos básicos de la mb no presentan diferencias ultraestructurales significativas tanto en el plano radial como en el longitudinal de la cóclea.
- 3ª. La substancia fundamental con los filamentos alojados en su interior disminuye de grosor desde la base hasta el ápice, donde prácticamente no existe en la casi totalidad de la pt. En el plano radial posee dos zonas de máximo espesor, la primera corresponde al área del vaso espiral - que desaparece en la región apical. La segunda, situada entre el tercio medio y externo de la pp se reduce de tamaño algo más de dos veces entre ambos extremos del cc.
- 4ª. El vaso espiral en el gato, no parece contribuir de un modo primordial al aporte nutritivo del órgano de Corti y es probable que su presencia en el animal adulto deba interpretarse como un vestigio embrionario. - Este capilar sanguíneo solo se visualizó en dos de los seis especímenes examinados con microscopía electrónica de transmisión y en ambos casos estaba localizado a la altura de la spa.
- 5ª. No todos los filamentos de la mb mantienen una dirección estrictamente radial a lo largo de su trayecto como se demuestra por la oblicuidad de algunos de ellos en la región del pilar interno, su verticalidad en el -

área del vaso espiral y la presencia de haces intermedios en relación - con los dos estratos de la pp.

- 6^a. La densidad de los haces filamentosos no varía de un modo significativo a través de la cóclea. En cambio, el número de filamentos contabilizados en el interior de la sustancia fundamental decrece unas doce veces aproximadamente entre su extremo basal y el apical.
- 7^a. La distribución radial de las células timpánicas es muy irregular y adopta una distinta configuración según su localización coclear. A nivel de la spb baja, las células colindantes superponen sus bordes formando una capa única en contigüidad con la sustancia fundamental adyacente, mientras que en zonas más altas se distinguen varios estratos de núcleos rodeados por numerosas prolongaciones dispuestas sin un orden fijo en el interior de la perilinfa y con abundantes espacios líquidos entre ellas.
- 8^a. El grosor de la superficie ocupada por las células timpánicas aumenta considerablemente desde la región basal hasta el comienzo de la spm alta, donde alcanza el máximo espesor, estrechándose de forma paulatina en los restantes milímetros de la cóclea. Este incremento que llega incluso a las 120 veces en la zona del pilar externo, se produce sobre todo a expensas de las prolongaciones celulares sugiriendo una posible ramificación o bifurcación de las mismas en algún punto de su recorrido.
- 9^a. El número de células timpánicas en el gato, a diferencia del cobaya, - siempre es menor en las proximidades de la vr que en las demás porciones del cc. Una vez más se comprueba la existencia de variaciones estructurales en relación con la especie animal y la imprecisión que conlleva la absoluta extrapolación de datos entre ellas.
- 10^a. En las superficies de contacto entre células timpánicas vecinas apare-

cen con frecuencia unos complejos de unión celular cuyas características morfológicas impiden su total identificación con alguno de los tipos descritos hasta el momento actual. Sin embargo, la falta de fusión entre las láminas externas de las dos membranas plasmáticas y la presencia de un material electrodenso en el espacio intercelular apuntan hacia una probable función de soporte que determinaría su inclusión en el grupo de los desmosomas.

- 11^a. Las células timpánicas adyacentes a la sustancia fundamental establecen con ella una relación directa sin interposición de la lámina basal. A menudo, en la zona de contacto se produce una diferenciación específica de la membrana plasmática que, bajo un punto de vista funcional, parece corresponder a un hemidesmosoma.
- 12^a. El grosor de la mb casi se duplica entre la zona basal y la spm alta donde sitúa su mayor espesor, pero, una vez sobrepasado éste, se reduce progresivamente hasta alcanzar el extremo apical de la cóclea.
- 13^a. El plano del eje mayor de las tres células ciliadas externas no se corresponde con el radial de la mb. Entre ambos se forma un ángulo agudo de amplitud variable y siempre mayor en la spb que en las restantes porciones del cc.
- 14^a. La anchura de la mb aumenta desde la base hasta el ápice, aunque disminuye de amplitud en el último milímetro apical. Su valor mínimo siempre se localiza en la región de la vr, mientras que el máximo se encuentra a nivel de los 22,70 mm aproximadamente, estableciéndose una variación media de 4,80 veces entre ambas medidas.
- 15^a. La razón del incremento radial de la anchura de la mb no mantiene una progresión constante, sino que constituye una función parabólica, lineal

o exponencial, según el segmento coclear analizado. En la mb del humano y del murciélago también se distinguen tres segmentos claramente definidos por dicha variable.

- 16^a. El ensanchamiento de la mb no afecta por igual a sus dos porciones, - ya que la pt muestra un aumento 1,6 veces superior al de la pp a través de la longitud coclear.
- 17^a. La técnica histológica de superficie resultó un método excelente para determinar la anchura total de la mb, debiéndose considerar el más exacto de los tres empleados por introducir menos variables que los otros dos.
- 18^a. Las modificaciones que conjuntamente presentan los distintos parámetros de la mb, anchura, grosor y elementos estructurales sobre todo la porción filamentososa, a lo largo de la cóclea justifican su diferente rigidez entre ambos extremos de la misma. En la spb baja tiene una anchura y un espesor mínimos; pero mientras las células timpánicas forman una capa inferior a 1 μ m en las inmediaciones de la sustancia fundamental, el grosor de esta última es máximo y se halla totalmente ocupado por los filamentos. Estas características morfológicas dan un aspecto muy compacto a la mb y en gran parte determinan su enorme resistencia intrínseca a nivel de la base. Sin embargo en el ápice posee una anchura 4,62 veces mayor mientras su grosor permanece similar, debido a la laxa distribución de las células timpánicas, puesto que la sustancia fundamental ofrece un espesor mínimo e incluso desaparece en algunas áreas de la pt y los filamentos son poco numerosos. En esta zona, aparentemente la más frágil de la mb, las células timpánicas parecen constituir una especie de soporte flexible o amortiguador cuya función podría consistir en absorber el exceso de energía producido por las vibraciones de gran intensidad.

- 19^a. Las soluciones de continuidad de la lámina o membrana basal, descubiertas entre las células de Hensen en la spm alta y región apical de todas las cócleas examinadas con microscopía electrónica de transmisión, proveen, por primera vez, de una evidencia estructural al hecho demostrado de que las partículas pasan libremente a través de la mb desde la rampa timpánica a los espacios extracelulares del órgano de Cortí. Por otro lado, estas aberturas o poros de la lámina o membrana basal así como la especial disposición histológica de la mb en dichos niveles del cc, permiten un amplio contacto de la perilinfa con el interior del órgano sensorial.
- 20^a. Los distintos componentes de la mb no mostraron claras diferencias en relación con la edad de los gatos analizados. Aunque no se descarta la posibilidad de que la separación temporal entre los dos grupos de animales pudiera ser insuficiente para evidenciar estas alteraciones evolutivas.
- 21^a. En el presente estudio se demuestra que, en los mamíferos, la capacidad para discriminar una misma frecuencia no se encuentra asociada a una determinada anchura de la mb. Por lo tanto, en el análisis mecánico de las frecuencias cocleares además de la anchura también intervienen los otros parámetros de la misma.
- 22^a. A la vista de los resultados obtenidos y de las observaciones ya expuestas, se puede concluir, de forma general, que la mb presenta modificaciones cuantitativas muy importantes a través del cc y su transformación es muy ostensible a la altura de los dos extremos del mismo. La distribución de los tres componentes membranosos, sustancia fundamental, porción filamentosa y células timpánicas, varía constantemente al rectificar su posición en la cóclea pero la razón de dicho cambio es inestable, progresiva y en cierto modo característica de cada uno de -

ellos. Todas estas diferencias estructurales de la mb en función de la distancia a la vr conducen a la aparición de un substrato morfológico - específico para cada nivel y cuya existencia justifica, en gran parte, - las distintas peculiaridades de su patrón vibratorio a lo largo del cc.

El

VIII. BIBLIOGRAFIA

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Alford, B.R., Shaver, E.F., Rosenberg, J.J. y Guilford, F.R. 1965. Physiologic and histopathologic effects of microembolism of the internal auditory artery. Ann Otol Rhinol Laryngol 74, 728.
2. Altmann, F. y Waltner, J.G. 1947. The physiology of the perilymphatic fluid. Trans Amer Acad Ophtal Otolaryngol 48, 361.
3. Altmann, F. y Waltner, J.G. 1950. New investigations on the physiology of the labyrinthine fluids. Laryngoscope 60, 727.
4. Andersson, H., Henricson, B., Lundquist, P.G., Wedenberg, E. y Wersäll, J. 1968. Genetic hearing impairment in the Dalmatian dog. Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl 232.
5. Angelborg, C. 1974. Distribution of macromolecular tracer particles (Thorotrast^R) in the cochlea. An electron microscopic study in guinea pig. Part I. The organ of Corti, the basilar membrane and the tympanic covering layer. Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl 319, 19.
6. Angelborg, C. y Engström, B. 1974. The tympanic covering layer. An electron microscopy study in guinea pig. Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl 319, 43.
7. Antoli-Candela, F., Jr., McGill, T. y Peron, D. 1977. Histopathological observations on the cochlear changes in otosclerosis. Ann Otol Rhinol Laryngol 86, 813.
8. Asai, K. 1908a. Die Blutgefäße des häutigen Labyrinthes des Hundes. Anat Hefte 36, 369.
9. Asai, K. 1908b. Die Blutgefäße des häutigen Labyrinthes der Ratte. Anat Hefte 36, 711.
10. Axelsson, A. 1968. The vascular anatomy of the cochlea in the guinea pig and in man. Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl 243.

11. Axelsson, A. 1973. The vascular anatomy of the Rhesus monkey cochlea. Acta Otolaryngol (Stockh) 77, 381.
12. Axelsson, A. y Lind, A. 1973. The capillary areas in the rabbit cochlea. Acta Otolaryngol (Stock) 76, 254.
13. Axelsson, A. y Lipscombe, D. 1975. The vascular pattern of the chin chilla cochlea. Acta Otolaryngol (Stock) 79, 352.
14. Axelsson, A. y Vertes, D. 1978. Vascular histology of the guinea pig cochlea. Acta Otolaryngol (Stockh) 85, 198.
15. Bast, L.H. 1931. Blood supply of the otic capsule. Anat Rec 48, 141.
16. Beck, Ch. y Michler, H. 1960. Feinstrukturelle und histochemische Veränderungen an den Strukturen der Cochlea beim Meerschweinchen nach dosierter Reintonbeschallung. Arch Ohren- usw Heilk u Z Hals- usw Heilk 174, 496.
17. von Békésy, G. 1943. Über die Resonanzkurve und die Abklingzeit der verschiedenen Stellen der Schneckentrennwand. Akust Zeits 8, 66.
18. von Békésy, G. 1944. Über die mechanische Frequenzanalyse in der Schnecke verschiedener Tiere. Akustische Z 9, 3.
19. von Békésy, G. 1947. The variation of phase along the basilar membrane with sinusoidal vibrations. J Acoust Soc Amer 19, 452.
20. von Békésy, G. 1960. Experiments in Hearing (ed. McGraw-Hill). New York, N. Y.
21. Boettcher, A. 1869. Ueber Entwicklung und Bau des Gehörlabyrinths nach Untersuchungen an Säugethieren. Nova Acta Phys Med Acad Nat Curios 35, 1.
22. Boettcher, A. 1887. Rückblicke auf die neueren Untersuchungen über den Bau der Schnecke, im Anschluss an eigene Beobachtungen. Arch Ohr Nas Kehlkopfheilk 24, 1.

23. Bohne, B.A. 1972. Location of small cochlear lesions by phase contrast microscopy prior to thin sectioning. Laryngoscope **82**, 1.
24. Borghesan, E. 1950. Zona vascolo-epitelliale della benderella di coniglio considerata probabile sorgente di endolinfa. Atti Clin Otorrinolaringol (Universidad de Palermo) **3**, 31.
25. Bredberg, G. 1968. Cellular pattern and nerve supply of the human organ of Corti. Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl **236**.
26. Bredberg, G., Ades, H.W. y Engström, H. 1972. Scanning electron microscopy of the normal and pathological altered organ of Corti. Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl **301**, 3.
27. Brightman, M.W. 1968. The intracerebral movement of proteins injected into blood and cerebrospinal fluid of mice. In Progress in Brain Research: Brain Barrier Systems (ed. Lajtha, A. y Ford, D.H.). Elsevier, New York.
28. Bruns, V. 1976. Peripheral auditory tuning for fine frequency analysis by the CF-FM bat *Rhinolophus ferrumequinum* L. Mechanical specialization of the cochlea. J Comp Physiol **106**, 77.
29. Bruns, V. 1980. Basilar membrane and its anchoring system in the cochlea of the greater horseshoe bat. Anat Embryol **161**, 29.
30. Cabezudo, L., Stocker, J., Esperanza, J. y Antolí-Candela, F., Jr. 1981. Estudio morfológico del oído medio e interno de los quirópteros: *Myotis Myotis*. Acta Otorrinolaringol Esp. En imprenta.
31. Ciges, M. 1965. Contribución al estudio histológico e histoquímico del ligamento espiral en la especie humana. Acta Otorrinolaringol (Iber Amer) **16**, 297.
32. Clifton, L., Exley, D. y Hallpike, C.S. 1956. Formation, circulation and chemical properties of the labyrinthine fluids. Br Med Bull **12**, 101.
33. Claudius, M. 1856. Bemerkungen über den Bau der häutigen Spiralliste der Schnecke. Z Wiss Zool **7**, 154.

34. Corti, A. 1851. Recherches sur l'organe de l'ouïe des mammifères. Z Wiss Zool 3, 109.
35. Cowell, W.P. y Rogers, J.B. 1957. Pathologic changes in the inner ears of senile guinea pigs. Laryngoscope 67, 118.
36. Crowe, S.J., Guild, S.R. y Polvogt, L.M. 1934. Observations on the pathology of high-tone deafness. Bull Johns Hopkins Hosp 54, 315.
37. Dallos, P. 1970. Low frequency auditory characteristics: Species dependence. J Acoust Soc Amer 48, 489.
38. Davis, H. 1957. Biophysics and physiology of the inner ear. Physiol Rev 37, 1.
39. Davis, H. 1962. Advances in the neurophysiology and neuroanatomy of the cochlea. J Acoust Soc Amer 34, 1377.
40. Duvall, A.J. y Wersäll, J. 1964. Site of action of streptomycin upon inner ear sensory cells. Acta Otolaryngol (Stockh) 57, 581.
41. Duvall, A.J., III y Quick, C.A. 1969. Tracers and endogenous debris in delineating cochlear barriers and pathways. Ann Otol Rhinol Laryngol 78, 1041.
42. Duvall, A.J., III, Quick, C.A. y Sutherland, C.R. 1971. Horseradish peroxidase in the lateral cochlear wall. An electron microscopic study of transport. Arch Otolaryngol 93, 304.
43. Duvall, A.J., III y Sutherland, C.R. 1970. The ultrastructure of the extrasensory cells in the cochlear duct. In Biochemical Mechanisms in Hearing and Deafness (ed. M.M. Paparella), p. 149. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois.
44. Duvall, A.J., III y Sutherland, C.R. 1972. Cochlear transport of horseradish peroxidase. Ann Otol Rhinol Laryngol 81, 705.
45. von Ebner, V. 1903. Vom Gehörorgane. In Handbuch der Gewebelehre des Menschen (ed. von A. Kolliker), Vol. III: Wilhelm Engelmann, Leipzig.

46. Engström, H. 1951. Microscopic anatomy of the Inner ear. Acta Otolaryngol (Stockh) 40, 5.
47. Engström, H. 1955. The structure of the basilar membrane. Acta Otorhinolaryngol (Belg) 9, 531.
48. Engström, H. 1960. The cortilymph, the third lymph of the Inner ear. Acta Morphol Neer (Scand) 3, 195.
49. Engström, H. y Wersäll, J. 1953. Is there a special nutritive cellular system around the hair cells in the organ of Corti?. Ann Otol Rhinol Laryngol 62, 507.
50. Engström, H. y Wersäll, J. 1958. Structure and innervation of the Inner ear sensory epithelia. Int Rev Cytol 7, 535.
51. Engström, H., Ades, H.W. y Hawkins, J.E., Jr. 1962. Structure and functions of the sensory hairs of the Inner ear. J Acoust Soc Amer 34, 1356.
52. Engström, H., Ades, H.W. y Andersson, A. 1966. Structural pattern of the organ of Corti. Almqvist and Wiksell. Stockholm.
53. Ehret, G. y Frankenreiter, M. 1977. Quantitative analysis of cochlear structures in the house mouse in relation to mechanisms of acoustical information processing. J Comp Physiol 122, 65.
54. Evans, E.F. 1974. Auditory frequency selectivity and the cochlear nerve. In Facts and Models in Hearing (ed. E. Zwicker y E. Terhardt), p. 118. Springer, New York.
55. Evans, E.F. 1975. Normal and abnormal functioning of the cochlear nerve. Symp Zool Soc Lond 37, 133.
56. Evans, E.F. y Wilson, J.P. 1975. Cochlear tuning properties: concurrent basilar membrane and single nerve fiber measurements. Science 190, 1218.
57. Ewald, J. 1898. Ueber eine neue Hörtheorie. Wien Klin Wschr 11, 721.

58. Farquhar, M. y Palade, G.E. 1963. Junctional complexes in various epithelia. J Cell Biol 17, 375.
59. Farquhar, M. y Palade, G.E. 1965. Cell junctions in amphibian skin. J Cell Biol 26, 263.
60. Fawcett, D.W. 1963. Comparative observations on the fine structure of blood capillaries. In the peripheral Blood Vessels (ed. J.L. Orbison y D.E. Smith), p. 17. Williams y Wilkins, Baltimore.
61. Fernández, C. 1952. Dimensiones of the cochlea (guinea pig). J Acoust Soc Amer 24, 519.
62. Fernández, C. 1958a. Postmortem changes and artefacts in human temporal bones. Laryngoscope 68, 1586.
63. Fernández, C. 1958b. Postmortem changes in the vestibular and cochlear receptors (guinea pig). Arch Otolaryngol 68, 460.
64. Flanagan, J.L. 1960. Models for approximating basilar membrane displacement. Part I. Bell Syst Tech J 39, 1163.
65. Flanagan, J.L. 1962. Models for approximating basilar membrane displacement. Part II. Bell Syst Tech J 41, 959.
66. Fleischer, G. 1976. On bony microstructures in the dolphin cochlea, related to hearing. N Jb Geol Paläont Abh 151, 166.
67. Gacek, R. y Schuknecht, H.F. 1969. Pathology of presbycusis. Audiol 8, 199.
68. Geisler, C.D., Rhode, W.S. y Kennedy, D.T. 1974. Response to tonal stimuli of single auditory fibers and their relationship to basilar membrane motion in the squirrel monkey. J Neurophysiol 37, 1156.
69. Gilula, N.B. 1974. Junctions between cells. In Cell Communication (ed. R.P. Cox), p. 1. John Wiley and Sons, New York.
70. Gottstein, J. 1872. Über den feineren Bau und Entwicklung der Ge-

hörschnecke der Säugethiere und des Menschen. Arch Mikrosk Anat 8, 145.

71. Glorig, A. y Davis, H. 1961. Age, noise and hearing loss. Ann Otol Rhinol Laryngol 70, 556.
72. Goodman, D.A. y Smith, R.L. 1979. Intracellular and extracellular potentials in the organ of Corti of the Mongolian gerbil. Neurosci Abstr 5, 21.
73. Graham, R.C. y Karnovsky, M.J. 1966. The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney, ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochem Cytochem 14, 291.
74. Grünberg, H. 1952. In The genetics of the mouse. The Hague Martinus Nijhoff, Netherlands.
75. Guild, S.R. 1921. A graphic reconstruction method for the study of the organ of Corti. Anat Rec 22, 141.
76. Guild, S.R. 1927. The width of the basilar membrane. Science 65, 67.
77. Gussen, R. 1966. Basement membranes in the ear. Ann Otol Rhinol Laryngol 75, 1124.
78. Hamilton, D.W. 1967. Perilymphatic fibrocytes in the vestibule of the inner ear. Anat Rec 157, 627.
79. Hannover. Ref. Retzius.
80. Hardy, M. 1938. The length of the organ of Corti in man. Amer J Anat 63, 291.
81. von Hasse, C. 1886. Ueber die Gefässe in der lamina spiralis membranosa des Gehörorgans der Wirbelthiere. Anat Anz 1, 96.
82. Hawkins, J.E., Jr. 1967. Vascular patterns of the membranous la-

- byrlnth. In Third symposium on the role of the vestibular labyrinth in space exploration (ed. A. Graybiel), p. 241. NASA, Washington, D.C.
83. Hawkins, J.E., Jr. 1971. The role of vasoconstriction in noise-induced hearing loss. Ann Otol Rhinol Laryngol 80, 903.
84. Held, H. 1926. Die Cochlea der Säuger und der Vögel, ihre Entwicklung und ihr Bau. In Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie (ed. L.R. Bethe). Springer Verlag, Berlin.
85. Helmholtz, H.L.F. 1863. Die Lehre von den Tonempfindungen als physiologische Grundlage für die Theorie der Musik (ed. Vieweg Verlag). Brunswick, Germany.
86. Hensen, V. 1863. Zur Morphologie der Schnecke des Menschen und der Säugethiere. Z Wiss Zool 13, 481.
87. Henson, M. 1978. The basilar membrane of the bat, *Pteronotus p. parnellii*. Am J Anat 153, 143.
88. Henson, O.W. 1970. The ear and audition. In The biology of bats. Vol. II, p. 181. W.A. Wimsatt ed. Academic New York.
89. Hinchcliffe, R. y Pye, A. 1968. The cochlea in chiroptera: A quantitative approach. J Int Audiol 7, 259.
90. Hornstrand, C., Axelsson, A. y Vertes, D. 1980. The vascular anatomy of the rat cochlea. Acta Otolaryngol (Stockh) 89, 1.
91. Hurst, C.H. 1895. A new theory of hearing. Trans Liverpool Biol Soc 9, 351.
92. Igarashi, M., Mahon, R.G., Jr. y Konishi, S. 1968. Comparative measurements of cochlear apparatus. J Speech Hear Res 11, 229.
93. von Ilberg, Ch. 1968. Auskleidung der Perilymphräume im Innenohr. Z Laryngol Rhinol Otol 47, 353.
94. von Ilberg, Ch. y Vosteen, K.H. 1969. Permeability of the inner ear membranes. Acta Otolaryngol (Stockh) 67, 165.

95. Ishiyama, E., Keels, E. y Weibel, J. 1970. New anatomical aspects of the vasculo-epithelial zone of the spiral limbus in mammals. Acta Otolaryngol (Stockh) 70, 319.
96. Iurato, S. 1958. Precisazioni sulla struttura microscopica e sulle variazioni diametriche della membrana basilare dell'organo del Corti. Anat Anz 105, 275.
97. Iurato, S. 1962. Submicroscopic structure of the membranous labyrinth. III. The supporting structure of Corti's organ. (Basilar membrane, limbus spiralis and spiral ligament). Z Zellforsch Mikrosk Anat 56, 40.
98. Iurato, S. 1967. Basilar membrane, spiral limbus and spiral ligament. In Submicroscopic Structure of the Inner Ear (ed. S. Iurato), p. 61. Pergamon Press, Oxford.
99. Iurato, S. 1976. Transmission electron microscopy. In Handbook of Auditory and Vestibular Research Methods (ed. C. Smith y J.A. Vernon), p. 81. C. Thomas. Springfield.
100. Iurato, S. y de Petris, S. 1960. Submicroscopic structure and nature of the limbus spiralis, the basilar membrane and the spiral ligament. Proc Europ Reg Conf on Electron Microscopy 2, 814.
101. Jahnke, K. 1973. Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Permeabilitätsbarrieren des Innenohres. Arch Klin Exp Ohren Nasen Kehlkopfheilkd 204, 199.
102. Johnstone, B.M. y Boyle, A.J.F. 1967. Basilar membrane vibration examined with the Mössbauer technique. Science 158, 389.
103. Kanno, Y. y Lowenstein, W.R. 1964. Low resistance coupling between gland cells. Some observations on intercellular contact membranes and intercellular space. Nature 201, 194.
104. Karnovsky, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. J Cell Biol 27, 137 A.
105. Karnovsky, M.J. 1967. The ultrastructural basis of capillary permeability studied with peroxidase as a tracer. J Cell Biol 35, 213.

106. Keen, J.A. 1940. A note on the length of the basilar membrane in man and in various animals. J Anat 74, 524.
107. Kelly, D.E. 1966. Fine structure of desmosomes, hemidesmosomes and an adepidermal globular layer in developing newt epidermis. J Cell Biol 28, 51.
108. Kiang, N.Y.S., Watanabe, E.T. y Clark, L. 1965. Discharge patterns of single fibers in the cat's auditory nerve. Research monograph, 35. M.I.T. Press. Cambridge, Mass.
109. Kikuchi, K. y Hilding, D.A. 1965. The development of the organ of Corti in the mouse. Acta Otolaryngol 60, 207.
110. Kikuchi, K. y Hilding, D.A. 1967. The spiral vessel and stria vascularis in Shaker-1 mice. Electron microscopic and histochemical observations. Acta Otolaryngol (Stockh) 63, 395.
111. Kimura, R.S. 1967. Experimental blockage of the endolymphatic duct and sac and its effect on the inner ear of the guinea pig. A study on endolymphatic hydrops. Ann Otol Rhinol Laryngol 76, 664.
112. Kimura, R.S. 1975. The ultrastructure of the organ of Corti. Int Rev Cytol 42, 173.
113. Kimura, R.S. y Ota, C.Y. 1974. Ultrastructure of the cochlear blood vessels. Acta Otolaryngol (Stockh) 77, 231.
114. Kirchner, F.R. 1968. Intralabyrinthine perfusion. Laryngoscope 78, 2049.
115. Koenig, W. 1949. A new frequency scale for acoustic measurements. Bell Lab Rec, 299.
116. Kohlöffel, L.U.E. 1972a. A study of the basilar membrane vibrations. I. Fuzziness-detection: A new method for the analysis of micro vibrations with laser light. Acustica 27, 49.
117. Kohlöffel, L.U.E. 1972b. A study of the basilar membrane vibrations. II. The vibratory amplitude and phase pattern along the basi-

lar membrane (postmortem). Acustica 27, 66.

118. Kohlöffel, L.U.E. 1972c. A study of the basilar membrane vibrations. III. The basilar membrane frequency response curve in the living guinea pig. Acustica 27, 82.
119. Kolmer, W. 1907. Beiträge zur Kenntnis des feineren Baues des Gehörorgans mit besonderer Berücksichtigung der Häussaugetiere. Arch Mikrosk Anat 70, 695.
120. Kolmer, W. 1927. Gehörorgan. In Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen Vol. III (ed. W. Möllendorff), p. 250. Springer Verlag, Berlin.
121. Lavdowsky, M. 1876. Untersuchungen über den akustischen Endapparat der Säugethiere. Arch Mikrosk Anat 13, 497.
122. Lawrence, M. 1966. Effects of interference with terminal blood supply on organ of Corti. Laryngoscope 76, 1318.
123. Lawrence, M., Wolsk, D. y Litton, W.B. 1961. Circulation of the inner ear fluids. Ann Otol Rhinol Laryngol 70, 753.
124. Lawrence, M., Gonzalez, G. y Hawkins, J.E., Jr. 1967. Some physiological factors in noise-induced hearing loss. Am Industr Hyg Ass J 28, 425.
125. Lim, D.J. 1969. Three dimensional observations of the inner ear with the scanning electron microscope. Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl 255, 1.
126. Lim, D.J. 1970. Surface ultrastructure of the cochlear perilymphatic space. J Laryngol Otol 84, 413.
127. Lipscomb, D. y Roettger, R. 1973. Capillary constriction in cochlear and vestibular tissues during noise stimulation. Laryngoscope 83, 259.
128. de Lorenzo, A.J.D., Shiroky, D.V. y Cohn, E.I. 1972. Distribution of exogenous horseradish peroxidase in perilymphatic and endo-

- lymphatic spaces of the guinea pig cochlea. In Vascular Disorders and Hearing Defects (ed. A.J.D. de Lorenzo), p. 185. University Park Press, Baltimore, Maryland.
129. Luft, J.H. 1961. Improvements in epoxy resin embedding methods. J Biophys Biochem Cytol 9, 409.
130. Lurie, M.H., Davis, H. y Hawkins, J.E. 1944. Acoustic trauma of the organ of Corti in the guinea pig. Laryngoscope 54, 375.
131. Lynn, P.A. y Sayers, B. McA. 1970. Cochlear innervation, signal processing and their relation to auditory time intensity effects. J Acoust Soc Amer 47, 525.
132. Mangabeira-Albernez, P.L. 1961. Histochemistry of the connective tissues of the cochlea. Laryngoscope 71, 1.
133. Manley, G.A. 1978. Cochlear frequency sharpening. A new synthesis. Acta Otolaryngol (Stockh) 85, 167.
134. Masuda, Y. 1972. An experimental study on perilymphatic communication route in guinea pig cochlea. Jap Jour Otol (Tokyo) 75, 1229.
135. Masuda, Y., Sando, I. y Hemenway, W.G. 1971. Perilymphatic communication routes in guinea pig cochlea. An experimental autoradiographic study. Arch Otolaryngol 94, 240.
136. Mayer, O. 1919. Das anatomische Substrat der Altersschwerhörigkeit. Arch Klin Exp Ohren Nasen Kehlkopfheilkd 105, 1.
137. Milloning, G. 1961. Further observations on a phosphate buffer for osmium solutions in fixation. J Appl Physics 32, 1637.
138. Möller, A. 1972. Coding of sounds in lower levels of the auditory system. Quart Rev Biophys 5, 59.
139. Nabeya, D. 1923. A study in the comparative anatomy of the blood vascular system of the internal ear in mammalia and homo. Acta Schol Med Univ Imp Kyoto 6, 1.

140. Nadol, J.B., Jr. 1978. Intercellular junctions in the organ of Corti. Ann Otol Rhinol Laryngol 87, 70.
141. Nadol, J.B., Jr., Mulroy, M.J., Goodenough, D.A. y Weiss, T.F. 1976. Tight and Gap junctions in a vertebrate inner ear. Amer J Anat 147, 281.
142. Nakai, Y. y Hilding, D. 1967. Adenosine Thriphosphatase distribution in the organ of Corti. Acta Otolaryngol (Stockh) 64, 477.
143. Neubert, K. 1950. Die Basilar membran des Menschen und ihr Verankerungs-system. Z Anat Entwicklungsgesch 114, 539.
144. Nomura, Y. 1968. A histological study of a perilymph cortilymph connection. Pract Otol Kyoto 61, 469.
145. Nomura, Y. 1970. Lipidosis of the basilar membrane. Acta Otolaryngol (Stockh) 69, 352.
146. Nuel, J.P. 1872. Beitrag zur Kenntniss der Säugethierschnecke. Arch Mikrosk Anat 8, 200.
147. Ottoson, D., Sjöstrand, F., Stestrom, S. y Svaetichin, G. 1953. Microelectrode studies on the EMF of the frog skin related to electron microscopy of the dermoepithelial junction. Acta Physiol (Scand) Suppl 106, 611.
148. Palay, S.L., McGee-Russell, S.M., Gordon, S. y Grillo, M.A. 1962. Fixation of neural tissues for electron microscopy by perfusion with solutions of osmium tetroxide. J Cell Biol 12, 385.
149. Pasini, C. 1943. Sulla struttura morfologica della membrana basilare della cavia. Arch Ital Otol 55, 147.
150. Pauling, L. y Corey, R.B. 1953. Compound helical configurations of polypeptide chains: structure of proteins of the α -keratin type. Nature 171, 59.
151. Perlín, S. 1946. The width of the basilar membrane in the guinea pig. J Exp Psychol 36, 127.

152. Pestalozza, G., Davis, H., Cowell, W.P. y Rogers, J.B. 1957. Decreased bioelectric potentials in the ears of senile guinea pigs. Laryngoscope 67, 1113.
153. Plotz, E. y Perlman, H.B. 1955. A histochemical study of the cochlea. Laryngoscope 65, 291.
154. Pye, A. 1965. The auditory apparatus of the Heteromyidae (Rodentia, Sciuromorpha). J Anat 99, 61.
155. Pye, A. 1966a. The structure of the cochlea in Chiroptera. I. Microchiroptera: Emballonuroidea and Rhinolophoidea. J Morph 118, 495.
156. Pye, A. 1966b. The structure of the cochlea in Chiroptera. II. Megachiroptera and Vespertilionoidea of the Microchiroptera. J Morph 119, 101.
157. Pye, A. 1967. The structure of the cochlea in Chiroptera. III. Microchiroptera: Phyllostomatoidea. J Morph 121, 241.
158. Pye, A. 1970. The structure of the cochlea in Chiroptera. A selection of Microchiroptera from Africa. J Zool Lond 162, 335.
159. Pye, A. 1972. Variations in the structure of the ear in the different mammalian species. Sound 6, 14.
160. Pye, A. 1973. The structure of the cochlea in Chiroptera from Africa. Periodium biologorum 75, 83.
161. Pye, A. 1977. The structure of the cochlea in some miomorph and caviomorph rodents. J Zool Lond 182, 309.
162. Pye, A. 1979. The structure of the cochlea in some mammals. J Zool Lond 187, 39.
163. Ramprashad, F., Money, K.E., Landolt, J.P. y Laufer, J. 1978. A neuroanatomical study of the cochlea of the little brown bat (*Myotis lucifugus*). J Comp Neurol 178, 347.

164. Ramprashad, F., Landolt, J.P., Money, K.E., Clark, D. y Laufer, J. 1979. A morphometric study of the cochlea of the little brown bat (*Myotis lucifugus*). J Morph 160, 345.
165. Ranke, O.F. 1950. Theory of operation of the cochlea: a contribution to the hydrodynamics of the cochlea. J Acoust Soc Amer 22, 772.
166. Rauch, S. 1960. Beitrag zur Biochemie der Hoerzellen. Zachr Laryng 39, 16.
167. Retzius, G. 1881. Das Gehörorgan der Wirbelthiere. I. Das Gehörorgan der Fische und Amphibien. Samson and Wallin, Stockholm.
168. Retzius, G. 1884. Das Gehörorgan der Wirbelthiere. II. Das Gehörorgan der Reptilien, der Vögel und der Säugethiere. Samson and Wallin, Stockholm.
169. Reynolds, E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain electron microscopy. J Cell Biol 17, 208.
170. Rhode, W.S. 1971. Observations of the vibration of the basilar membrane in squirrel monkeys using the Mössbauer technique. J Acoust Soc Amer 49, 1218.
171. Robertson, J.D. 1964. Unit membranes: A review with recent new studies of experimental alterations and a new subunit structure in synaptic membranes. In Cellular Membranes in Development (ed. M. Locke), p. 1. Academic Press, New York and London.
172. Robertson, D. y Manley, G.A. 1974. Manipulation of frequency analysis in the cochlear ganglion of the guinea pig. J Comp Physiol 91, 363.
173. Rose, J.E., Brugge, J.F., Anderson, D.J. y Hind, J.E. 1967. Phase locked response to low-frequency tones in single auditory nerve fibers of the squirrel monkey. J Neurophysiol 30, 769.
174. Russell, I.J. y Sellick, P. 1977. Tuning properties of cochlear hair cells. Nature 267, 858.

175. Sando, I., Wood, R.P., II, Masuda, Y. y Hemenway, W.G. 1971. Perilymphatic communication routes in guinea pig cochlea. Ann Otol Rhinol Laryngol 80, 826.
176. Schuknecht, H.F. 1953. Techniques for study of cochlear function and pathology in experimental animals. Development of the anatomical frequency scale for the cat. Arch Otolaryngol 58, 377.
177. Schuknecht, H.F. 1960. Neuroanatomical correlates of auditory sensitivity and pitch discrimination in the cat. In Neural mechanisms of the auditory and vestibular systems. (ed. Rasmussen, G.L. and Windle). W.F. Charles C. Thomas. Springfield.
178. Schuknecht, H.F. 1964. Further observations on the pathology of presbycusis. Arch Otolaryngol 80, 369.
179. Schuknecht, H.F. 1967. The effect of aging on the cochlea. In Sensorineural hearing processes and disorders, p. 393. Little Brown and Co, Boston.
180. Schuknecht, H.F. 1968. Temporal bone removal at autopsy. Preparation and uses. Arch Otolaryngol 87, 129.
181. Schuknecht, H.F. 1974. Pathology of the ear. Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts.
182. Schuknecht, H.F. y Sutton, S. 1953. Hearing losses after experimental lesions in basal coil of cochlea. Arch Otolaryngol 57, 129.
183. Schuknecht, H.F., Churchill, J.A. y Doran, R. 1959. The localization of acetylcholinesterase in the cochlea. Arch Otolaryngol 69, 549.
184. Schuknecht, H.F. y Seifi, A.E. 1963. Experimental observations on the fluid physiology of the inner ear. Ann Otol Rhinol Laryngol 72, 687.
185. Schwalbe, G. 1887. Ueber die Glomeruli arteriosi der Gehörschnecke. Anat Anz 2, 93.
186. Shambaugh, G.E. 1903. The distribution of blood-vessels in the la-

byrinh of the ear of sus scrofa domesticus. The Decennial publication of the University of Chicago 10, 131.

187. Shambaugh, G.E. 1905a. The distribution of blood-vessels in the labyrinth of the ear of the sheep and the calf. Arch Otolaryngol 34, 71.
188. Shambaugh, G.E. 1905b. Communication between blood-vessels in the membranous labyrinth and endosteum and those in the bony capsule. Arch Otolaryngol 34, 469.
189. Shambaugh, G.E. 1910. Venous system of the labyrinth. Trans Amer Otolaryngol Soc 43, 77.
190. Shinozaki, N. y Miyoshi, M. 1975. Scanning electron microscope observations of the tympanic covering layer in the guinea pig. 10th Int Cong Anat, Tokyo, 313.
191. Slocker, J., Esperanza, J., Cabezudo, L. y Antolí-Candela, F., Jr. 1981. Aspectos morfológicos de la ecolocación en el Myotis Myotis. Morfología Normal y Patológica. En imprenta.
192. Smith, C.A. 1951. Capillary areas of the cochlea in the guinea pig. Laryngoscope 61, 1073.
193. Smith, C.A. 1954. Capillary areas of the membranous labyrinth. Ann Otol Rhinol Laryngol 63, 435.
194. Smith, C.A. y Tanaka, K. 1981. Further observations on the avian basilar papilla. Abstracts of the fourth Midwinter Research Meeting. ARO, 79.
195. Smith, C.A., Wu, M. y Lowry, O.H. 1952. Electrolytes of endolymph and perilymph. Science 116, 529.
196. Smith, C.A., Lowry, O.H. y Wu, M. 1954. The electrolytes of the labyrinthine fluids. Laryngoscope 64, 141.
197. Spoendlin, H. 1957. Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Cortischen Organ des Meerschweinchens. Pract Oto-Rhino-Laryng 19, 192.

198. Spoendlin, H. 1966. The organization of the cochlear receptor. Avd Otorhinolaryngol 13, 98.
199. Steele, C.R. 1973. A possibility for subtorial membrane fluid motion. In Basic mechanisms in hearing (ed. A.R. Moller). Academic Press. New York.
200. Steele, C.R. 1976. Cochlear mechanics. In Handb sens physiol. Vol. 3: Auditory system, clinical and special topics (ed. W.D. Keidel y W.D. Nell). Berlin-Heldelberg. New York.
201. Takahashi, T. y Kimura, R.S. 1970. The ultrastructure of the spiral ligament in the Rhesus monkey. Acta Otolaryngol (Stockh) 69, 46.
202. Tasaki, I. 1957. Hearing. Ann Rev Physiol 19, 417.
203. Tasaki, I., Davis, H. y Eldredge, D.H. 1954. Exploration of cochlear potentials guinea pigs with a microelectrode. J Acoust Soc Amer 26, 765.
204. Terayama, Y., Holz, E. y Beck, C. 1966. Adrenergic innervation of the cochlea. Ann Otol Rhinol Laryngol 75, 69.
205. Tonndorf, J. 1959. Beats in cochlear models. J Acoust Soc Amer 31, 608.
206. Tonndorf, J. 1960. Shearing motion in scala media of cochlear models. J Acoust Soc Amer 32, 238.
207. Tonndorf, J., Duvall, A.J., III y Reneau, J.P. 1962. Permeability of intracochlear membranes to various vital stains. Ann Otol Rhinol Laryngol 71, 801.
208. Voldrich, L. 1978. Mechanical properties of basilar membrane. Acta Otolaryngol (Stockh) 86, 331.
209. Wada, T. 1923. Anatomical and physiological studies on the growth of the inner ear of the albino rat. Amer Anat Mem (Wistar Inst. Anat) 10.

210. Ward, P.H. y Gussen, R. 1976. Preparation of the temporal bone for histopathological study. In Handbook of Auditory and Vestibular Research Methods (ed. C. Smith y J.A. Vernon), p. 54. C. Thomas. Springfield.
211. Weiss, P. y Ferris, W. 1954. Proc Nat Acad Sci 40, 528.
212. Webster, D.B. y Webster, M. 1977. Auditory systems of the Heteromyidae: Cochlear diversity. J Morph 152, 153.
213. Weiss, T.F., Peake, W.T. y Sohmer, H.S. 1971. Intracochlear potential recorded with micropipets. III. Relation of cochlear microphonic potential to stapes velocity. J Acoust Soc Am 50, 602.
214. Wersäll, J., Kimura, R. y Lundquist, P.G. 1965. Early postmortem changes in the organ of Corti (guinea pig). Z Zellforsch 65, 220.
215. Wever, E.G. 1938. The width of the basilar membrane in man. Ann Otol Rhinol Laryngol 47, 37.
216. Wever, E.G. 1949. Theory of Hearing (ed. John Wiley and Sons), p. 98. New York, N.Y.
217. Wever, E.G. y Lawrence, M. 1954. Physiological Acoustics. Princeton University Press, Princeton, N.J.
218. Wever, E.G., Lawrence, M. y von Békésy, G. 1954. A note on recent developments in auditory theory. Proc Nat Acad Sci 40, 508.
219. Wilson, J.P. y Johnston, J.R. 1972. Capacitive probe measures of basilar membrane. Symposium on Hearing Theory. Eindhoven IPO, 172.
220. Wilson, J.P. y Johnston, J.R. 1975. Basilar membrane and middle ear vibration in guinea pig measured by capacitive probe. J Acoust Soc Amer 57, 705.
221. Winther, F.O. 1971a. The permeability of the guinea pig cochlear capillaries to horseradish peroxidase. Z Zellforsch Mikrosk Anat 114, 193.

- 222. Winther, F.O. 1971b. Diffusion barrier to horseradish peroxidase in the vascular stria of the guinea pig. Z Zellforsch Mikrosk Anat 121, 499.
- 223. Wolff, D. 1935. Anomalous capillary plexus in the scala tympani. Arch Otolaryngol 22, 44.
- 224. Wright, J.L. y Schuknecht, H.F. 1972. Atrophy of the spiral ligament. Arch Otolaryngol 96, 16.
- 225. Wrightson, T. y Keith, A. 1918. An Enquiry into the Analytical Mechanism of the Internal Ear (ed. MacMillan and Company), p. 234. London.
- 226. Zweig, G. 1976. Basilar membrane motion. Cold Spring Harbor Symp Q Biology, 619.
- 227. Zwislöckl, J. 1953. Review of recent mathematical theories of cochlear dynamics. J Acoust Soc Amer 25, 743.
- 228. Zwislöckl, J. 1975. Phase opposition between inner and outer hair cells and auditory sound analysis. Audiology 14, 443.
- 229. Zwislöckl, J. y Kletschy, E.J. 1981. Outer hair cells: sharpness of tuning. Acta Otolaryngol (Stockh) 91, 481.

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

ESTUDIO MORFOLOGICO DE LA MEMBRANA BASILAR

EN EL GATO

ICONOGRAFIA

TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR

DÑA. LUCIA M. CABEZUDO GARCIA

DIRECTORES: PROF.D. ROBERT S. KIMURA

PROF.D. LUIS GOMEZ OLIVEROS

215

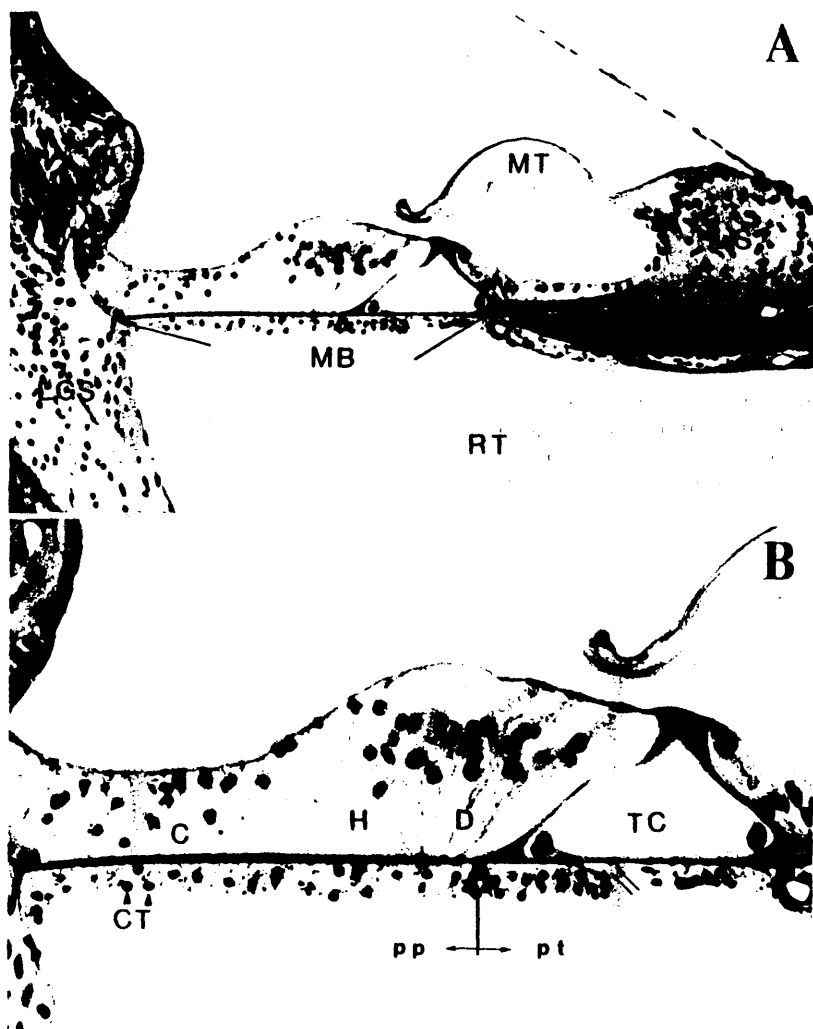
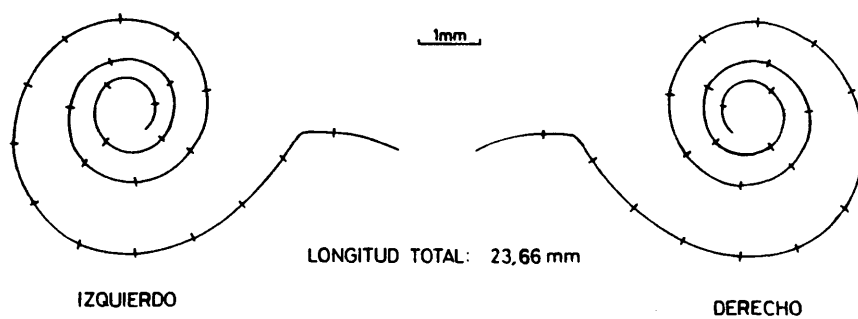


Figura 1

Microfotografías del órgano de Corti a nivel de la spm. A) MB, membrana basilar. La flecha de la izquierda señala la cresta basilar del ligamento espiral (LGS) y la de la derecha, el labio timpánico del limbo espiral (LS). MT, membrana tectoria; RT, rampa timpánica. B) TC, túnel de Corti; D, células de Deiters; H, células de Hensen; C, células de Claudius; CT, células timpánicas; ||, vaso espiral. La flecha indica el límite entre la pt y la pp.



Reconstrucción gráfica del órgano de Corti que permite localizar espacialmente cualquier elemento morfológico en el interior de la cóclea. La espiral representa la línea de unión de las cabezas de los pilares. La distancia se indica en mm a partir de la vr y corresponde a la longitud de la mb. Si sobre este cocleograma estándar se traza una línea imaginaria que pase por el borde superior de la vr, cada espira se divide en dos porciones, una alta y otra baja.

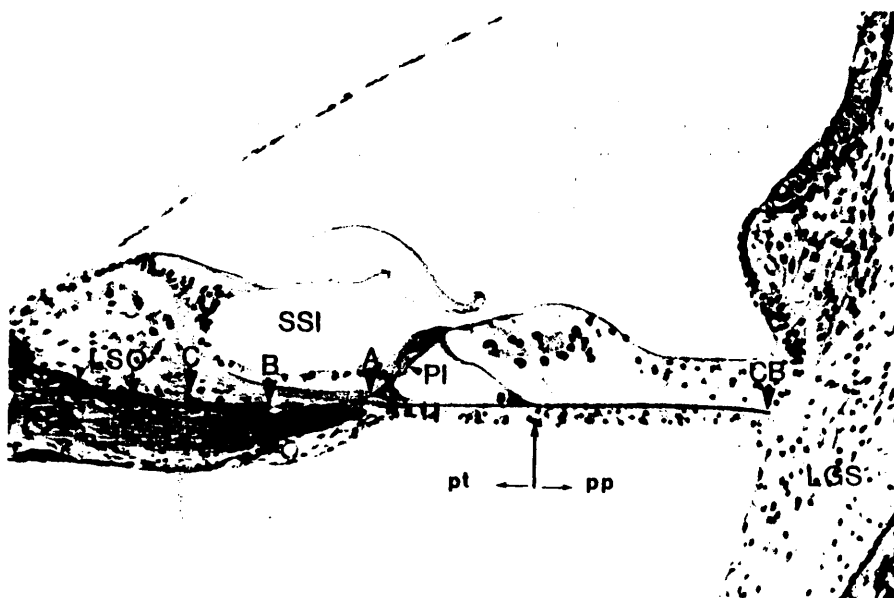


Figura 3

Anchura de la mb. Diferentes mediciones radiales efectuadas con la técnica de microscopía óptica. El límite externo siempre se fijó al comienzo de la cresta basilar (CB) del ligamento espiral (LGS), mientras que el interno se estableció a tres niveles distintos: (A) terminación medial del pilar interno (PI), (B) borde externo de la lámina espiral ósea (LSO) y (C) punto donde se cortan la proyección vertical de la tangente al borde medial del surco espiral interno (SSI) y la prolongación del eje radial de la mb. La flecha señala la zona de demarcación entre la pt y la pp.

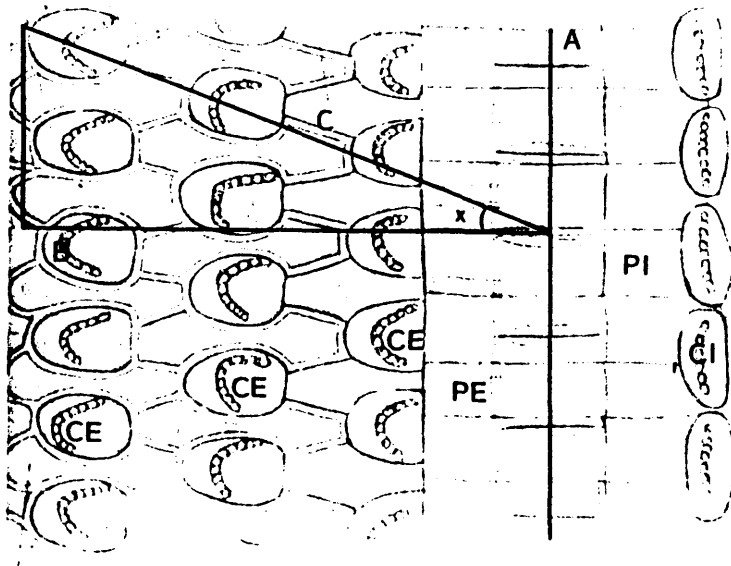


Figura 4

Esquema de la superficie endolinfática del órgano de Corti, tomado de - Retzius (168). Sobre este dibujo se han trazado tres líneas: la A representa la perpendicular al punto de unión de las cabezas de los pilares internos (PI) y externos (PE), la B se identifica con el eje radial de la mb y la C pasa a través del plano de las tres células ciliadas externas (CE). Coseno del ángulo $x = B/C$. CI, porción superior de las células ciliadas internas.

219

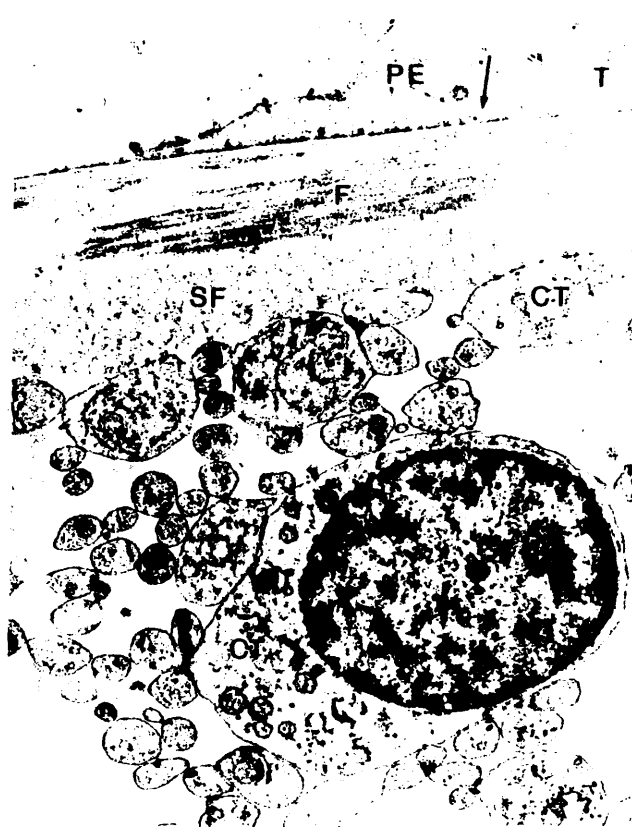


Figura 5

Microfotografía electrónica de la mb. Sección radial a nivel del pilar - externo (PE) en la spm alta. La flecha señala la terminación lateral de sus tonofilamentos (T), zona de demarcación entre la pt y la pp. F, porción filamentososa; SF, substancia fundamental; CT, células timpánicas. 17.300 X.

220

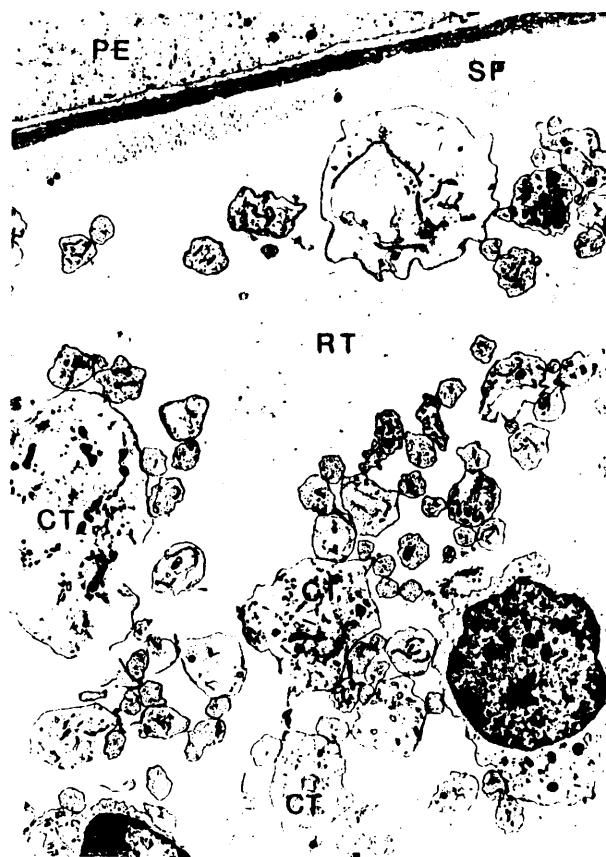


Figura 6

Microfotografía electrónica de la pt. Sección radial a la altura del pilar externo (PE) en la spm alta. Los filamentos (F) forman una capa única y compacta. SF, substancia fundamental; RT, rampa timpánica con los elementos celulares de la mb (CT). 6.750 X.



Figura 7

Microfotografía electrónica de la pp. Sección radial a nivel de las células de Claudius (C) en la spm alta. Los filamentos (F) se disponen en dos estratos, superior e inferior, con abundante substancia fundamental (SF) entre ellos. CT, células timpánicas. 8.000 X.



Figura 8.

Microfotografía electrónica de la mb. Sección perpendicular a nivel de la primera célula de Deiters (D), incluyendo la porción más lateral del pilar externo (PE) en la spm baja. Obsérvese la disposición longitudinal de las células timpánicas sobre la superficie libre de la sustancia fundamental (SF). |, complejos de unión celular; ||, hemidesmosoma. Los dos estratos filamentosos (F) de la pp establecen su primer contacto. LB, lámina o membrana basal. 15.200 X.

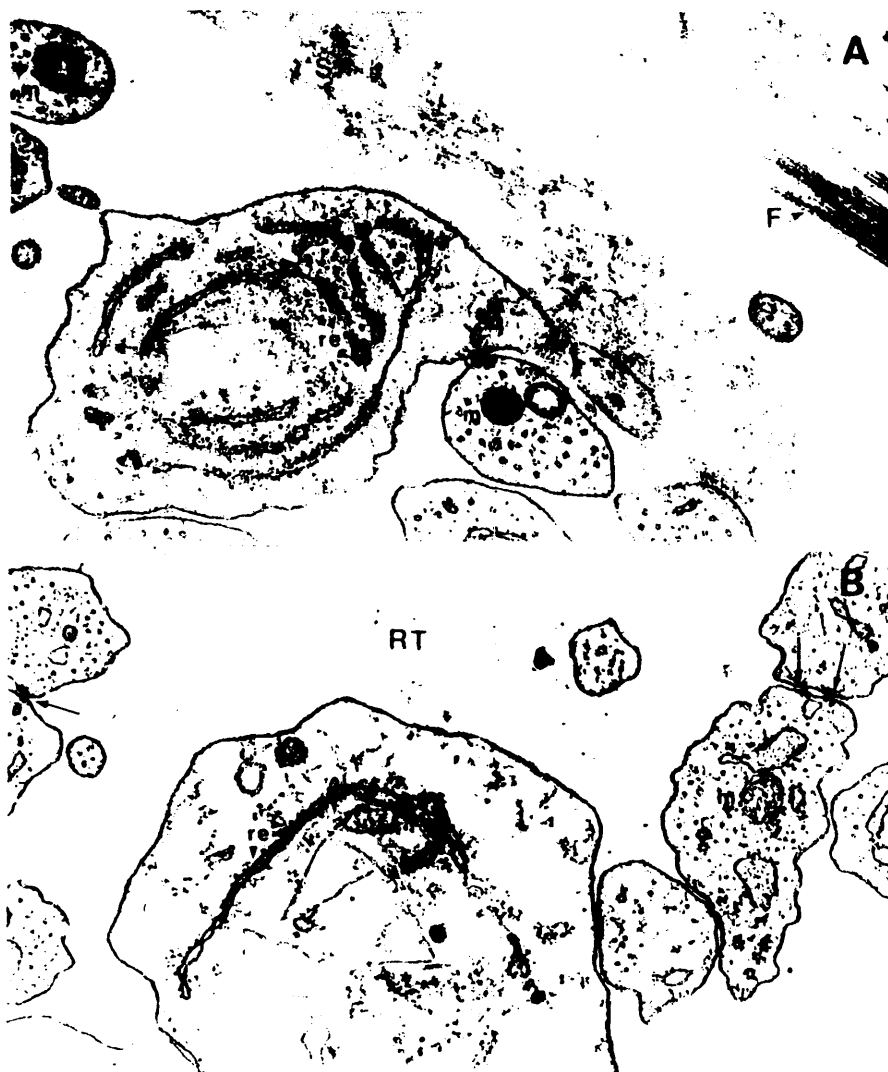


Figura 9

Microfotografía electrónica de las células timpánicas. Sección radial de sus prolongaciones. re, retículo endoplásmico; m, mitocondrias. A) SF, substancia fundamental; F, filamentos. 40.000 X. B) RT, rampa timpánica; ↑, complejos de unión celular. 45.850 X.



Figura 10

Microfotografía electrónica de las células timpánicas. Sección radial de sus prolongaciones en la spm. SF, substancia fundamental; v, vesículas de pinocitosis; ↑, complejos de unión celular; ↑↑, hemidesmosomas. - 18.750 X.

225

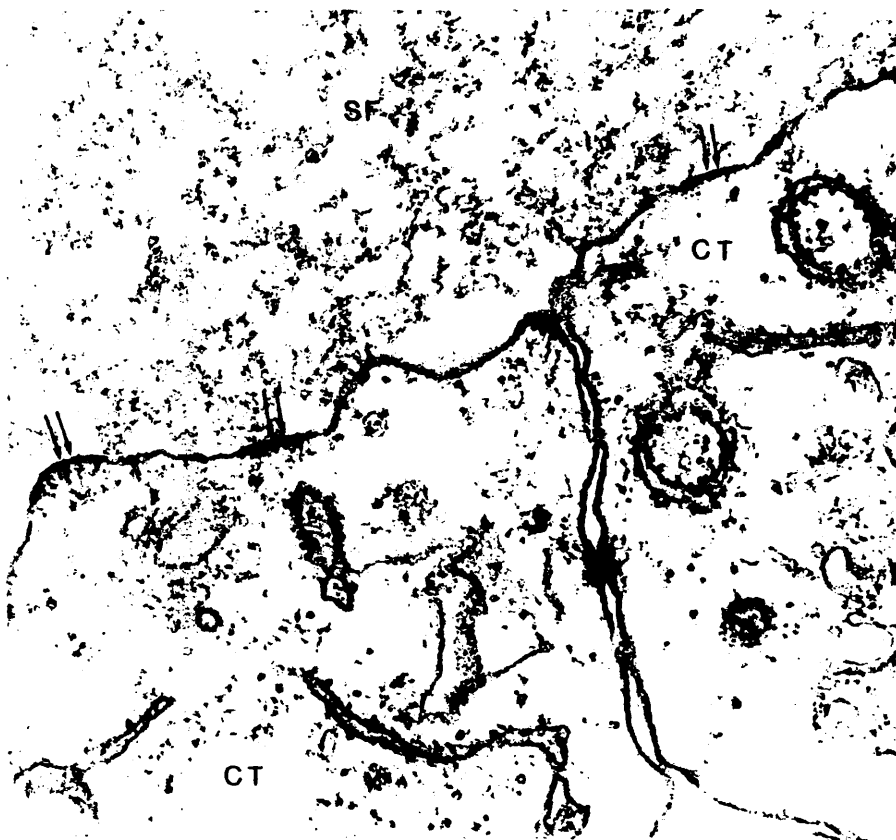


Figura 11

Microfotografía electrónica de las células timpánicas. Sección radial de - sus prolongaciones: Hemidesmosomas (||). Nótese que no existe lámina basal entre las células timpánicas (CT) y la sustancia fundamental (SF). 70.000 X.



Figura 12

Microfotografía electrónica de las células timpánicas. Sección radial de sus prolongaciones: Complejos de unión celular. A menudo se observa una diferenciación funcional de la membrana plasmática en la zona de contacto celular que no se puede incluir en ninguna de las clasificaciones conocidas hasta el momento actual. La falta de fusión de las láminas externas y la presencia de un material electrodensó en el espacio intercelular sugieren una posible función de soporte que determinaría su inclusión en el grupo de los desmosomas. 50.700 y 72.000 X.



Figura 13

Microfotografía electrónica de las células timpánicas. Sección radial de sus prolongaciones: Complejos de unión celular. Poseen gran parte de las características de los desmosomas: condensación citoplásmica, filamentos convergentes, membranas plasmáticas paralelas y depósito de un material denso en el espacio intercelular; sin embargo la distancia existente entre las dos hojas externas es menor de 100 Å, a diferencia de los 250-350 Å típicos de aquellos. 57.300 y 76.400 X.

GROSOR DE LA MEMBRANA BASILAR

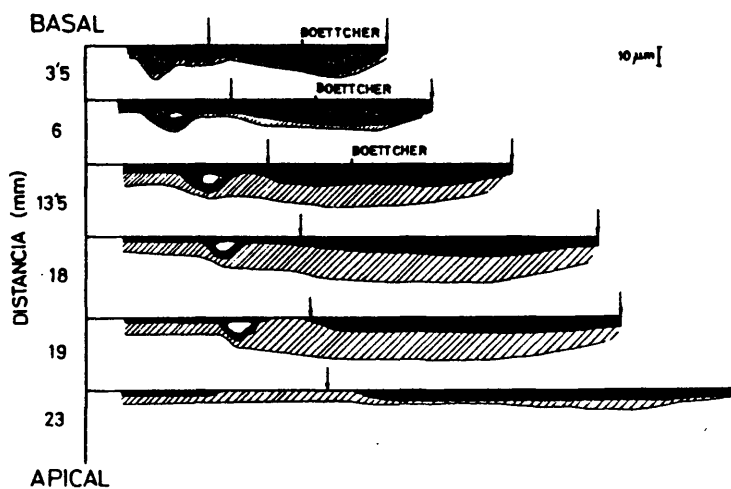


Figura 14

Representación esquemática de las variaciones que experimenta el grosor de la mb a lo largo del cc en seis posiciones distintas de un mismo animal. La zona negra simboliza la sustancia fundamental con la porción filamentososa en su interior y la rayada delimita el área ocupada por las células timpánicas. El eje vertical indica la distancia a la vr en mm. La flecha de la derecha señala la cresta basilar del ligamento espiral mientras que la de la izquierda muestra el límite entre la pt y la pp, entre ambas se marca el comienzo de las células de Boettcher.

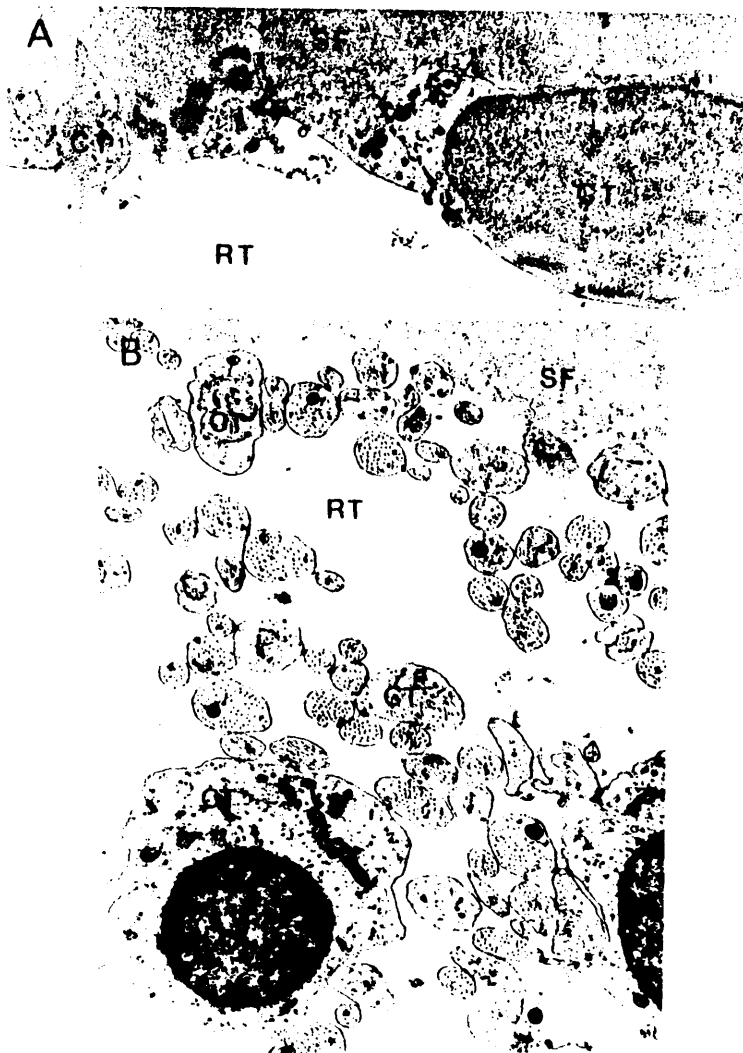


Figura 15

Microfotografía electrónica de las células timpánicas. Distribución radial de las mismas (CT) en la spb (A) y en la spm (B). SF, substancia fundamental; RT, rampa timpánica. 13.700 y 10.500 X.

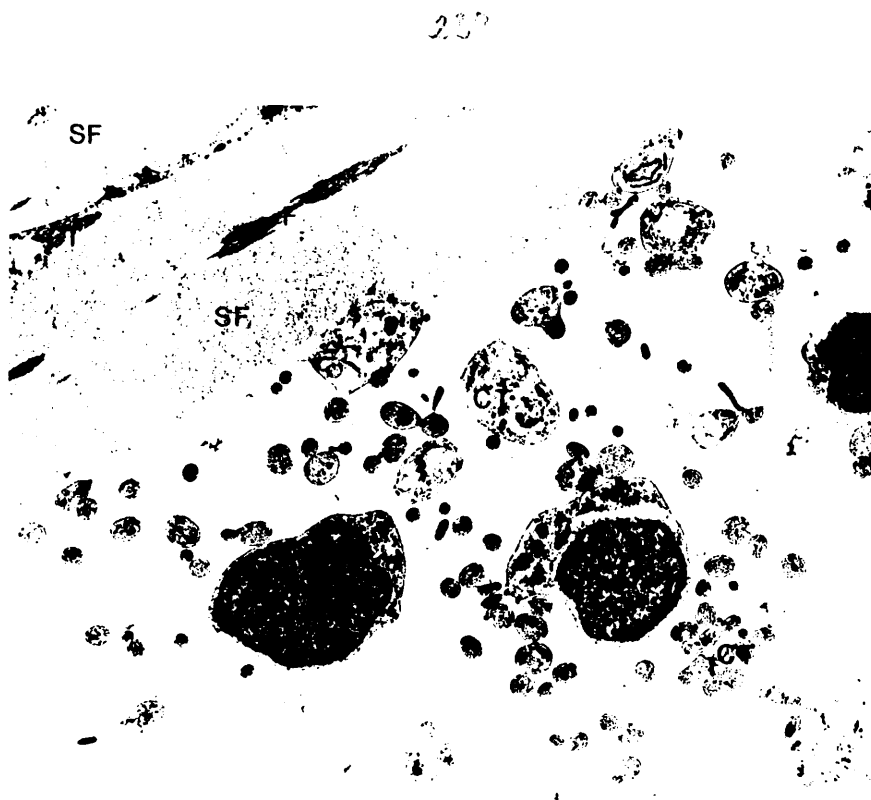


Figura 16

Microfotografía electrónica de las células timpánicas. Sección radial a nivel de las células de Claudius en la spa. Nótese la laxa distribución de las células timpánicas (CT) en esta región coclear y su presencia ocasional - en el interior de la substancia fundamental (SF). F, porción filamentososa. 9.400 X.

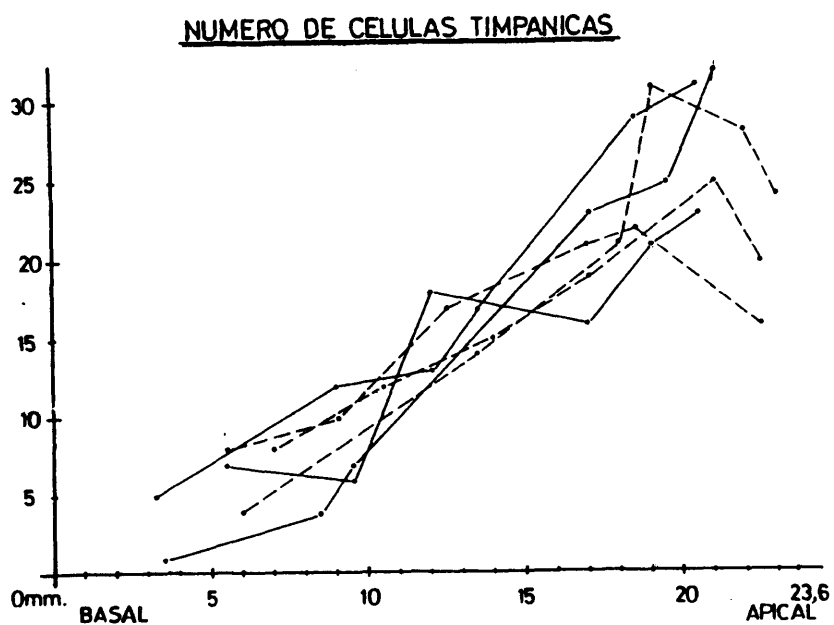


Figura 17

Estas gráficas ilustran los cambios cuantitativos que presentan las células timpánicas a lo largo del cc en cada uno de los seis animales examinados con microscopía electrónica de transmisión. El trazado continuo corresponde a los gatos jóvenes y el discontinuo a los adultos. El eje de ordenadas indica los núcleos celulares contabilizados a lo ancho de la mb y el de abscisas la distancia a la vr en mm.

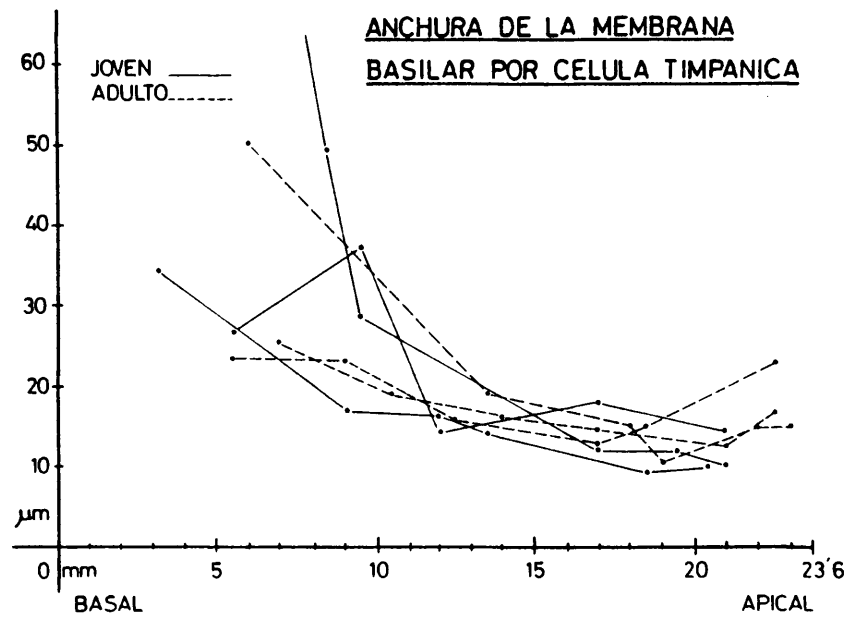


Figura 18

Representación gráfica de la relación que existe entre la anchura de la mb y el número de células timpánicas a lo largo del cc en cada uno de los seis animales examinados con microscopía electrónica de transmisión. El eje - de ordenadas indica $\mu\text{m}/\text{célula timpánica}$ y el de abscisas expresa la distancia a la vr en mm.



Figura 19

Microfotografía electrónica de la substancia fundamental (SF). A) Sección radial a nivel de la pp con la porción filamentososa (F) en su interior. -- 25.000 X. B) Formación densa en las proximidades de las células timpánicas (CT). 37.400 X.

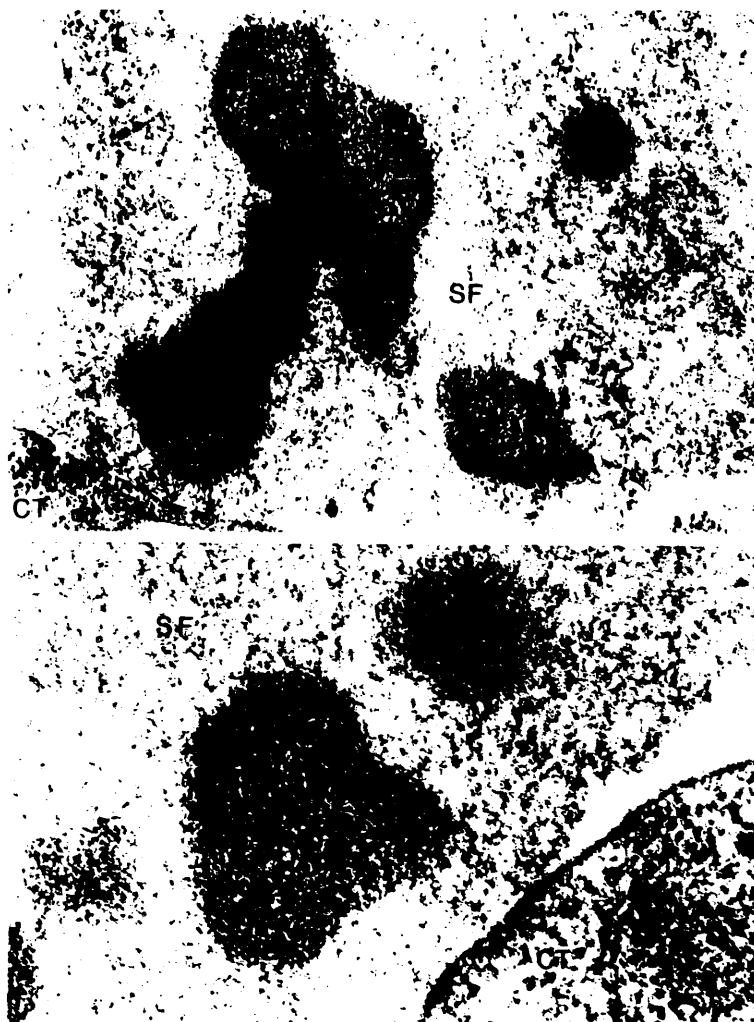


Figura 20

Microfotografías electrónicas de las formaciones oscuras de la sustancia fundamental (SF) a mayor aumento. CT, células timpánicas. 80.000 y 100.000 X.

235



Figura 21

Microfotografía electrónica de la substancia fundamental. Sección radial a nivel de las células de Claudius (C) en la spa. CT, células timpánicas situadas en el interior de la substancia fundamental (SF) entre ambos estratos filamentosos (F) de la pp. 20.100 X.

DISTRIBUCION DE LA SUBSTANCIA FUNDAMENTAL



Figura 22.

Esquema que representa la distribución radial de la sustancia fundamental con la porción filamentosa incluida, a nivel de la spb. A, terminación medial del pilar interno; B, comienzo del túnel de Corti; C, límite entre la pt y la pp; D, cresta basilar del ligamento espiral.



Figura 23

Microfotografía electrónica de la mb. Sección radial a nivel del pilar -- externo (PE) en la spa baja. Nótese la ausencia de substancia fundamental (SF) en la región subyacente al pilar externo. F, filamentos de la pt; CT, células timpánicas; †, complejos de unión celular; ††, hemidesmosomas; LB, lámina o membrana basal. 8.000 X.



Figura 24

Microfotografía electrónica del área correspondiente al vaso espiral (VS). Sección radial en la porción más baja de la spb. Se encuentra totalmente ocupada por substancia fundamental (SF). F, filamentos; PE, pilar externo. 14.300 X.



Figura 25

Microfotografía electrónica del área correspondiente al vaso espiral (VS). Sección radial a los 8 mm de distancia de la vr. Se aprecia la presencia de un pequeño espacio abierto en su centro. F, filamentos; SF, sustancia fundamental; PE, pilar externo. 15.700 X.

240

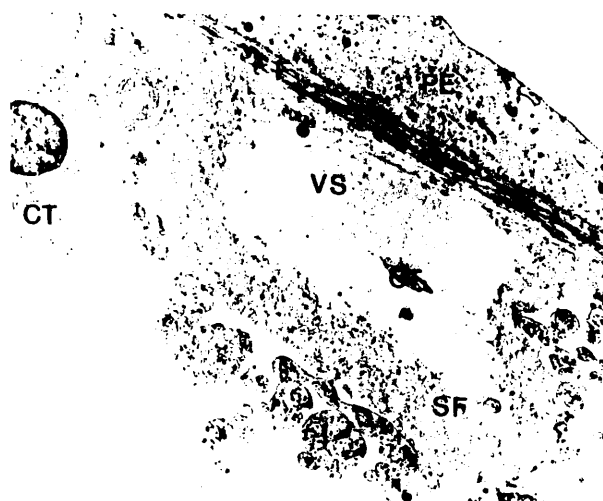


Figura 26

Microfotografía electrónica del área correspondiente al vaso espiral (VS). Sección radial al comienzo de la región apical. A su nivel constituye un amplio espacio rodeado por una delgada capa de substancia fundamental (SF) y en su interior a veces se observan prolongaciones de las células timpánicas (CT), aunque éstas se disponen preferentemente en la periferia del mismo. F, filamentos de la pt; PE, pilar externo. 4.000 X.



Figura 27

Microfotografía electrónica del área correspondiente al vaso espiral (VS). Sección radial a nivel de la spa. SF, substancia fundamental; F, filamentos de la pt; CT, células timpánicas; M, macrófago; PE, pilar externo. - 7.100 X.

242



Figura 28.

Microfotografía electrónica del vaso espiral propiamente dicho (VS). Este capilar sanguíneo solo se visualizó en la spa de dos de los seis especímenes examinados con esta técnica. Se encuentra rodeado por una delgada capa de sustancia fundamental (SF) y más externamente por las células timpánicas (CT). E, eritrocitos; F, filamentos de la pt; PE, pilar externo. 5.200 X.

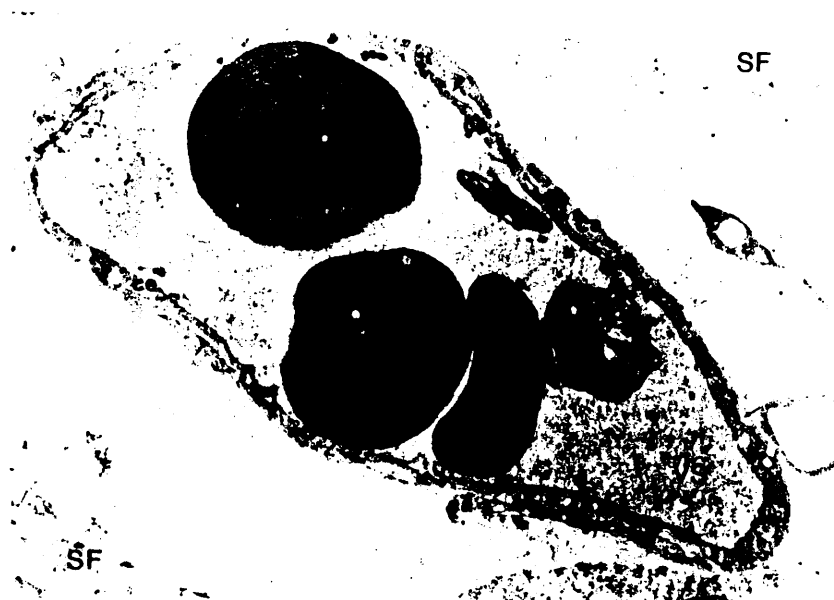


Figura 29

Microfotografía electrónica del vaso espiral propiamente dicho (VS) a mayor aumento. E, eritrocitos; ce, células endoteliales; ca, células adventiciales o pericitos. Las flechas señalan la lámina basal continua que separa ambos elementos celulares. SF, sustancia fundamental. 9.850 X.

244

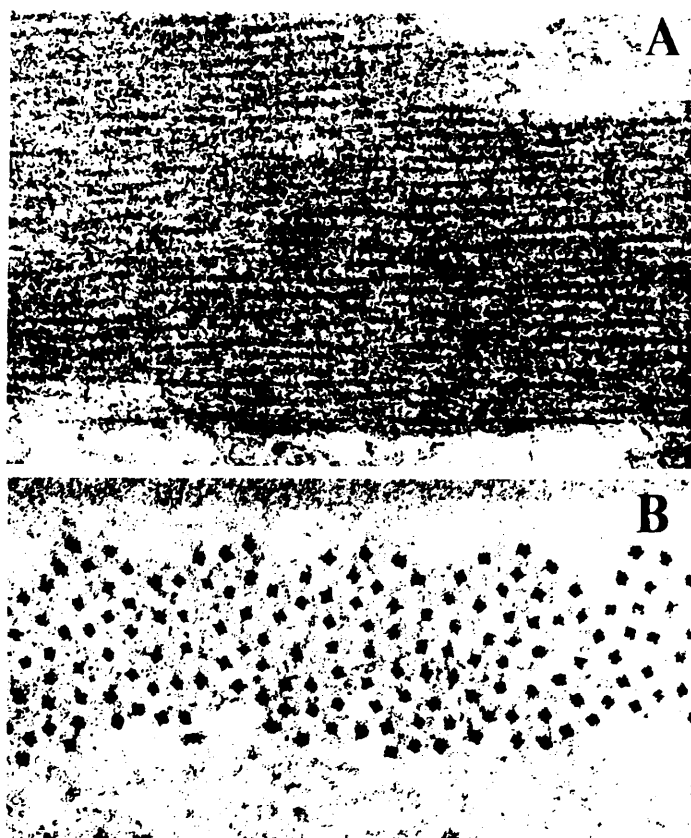


Figura 30

Microfotografía electrónica de la porción filamentosa. A) Sección radial del estrato inferior de la pp en la spm. Obsérvese la densidad irregular de sus bordes. 101.000 X. B) Sección perpendicular del estrato superior a la altura de las células de Claudius en la spm. Nótese que cada filamento posee cuatro o cinco subfibrillas a modo de rectángulo o en forma de diamante. 152.700 X.

245



Figura 31

Microfotografía electrónica de la porción filamentososa en la pt. Sección radial a nivel del pilar externo (PE) en la spa. Los filamentos (F) forman una capa continua sin soluciones de continuidad. TC, túnel de Corti; SF, sustancia fundamental; CT, células timpánicas. 6.500 X.

246

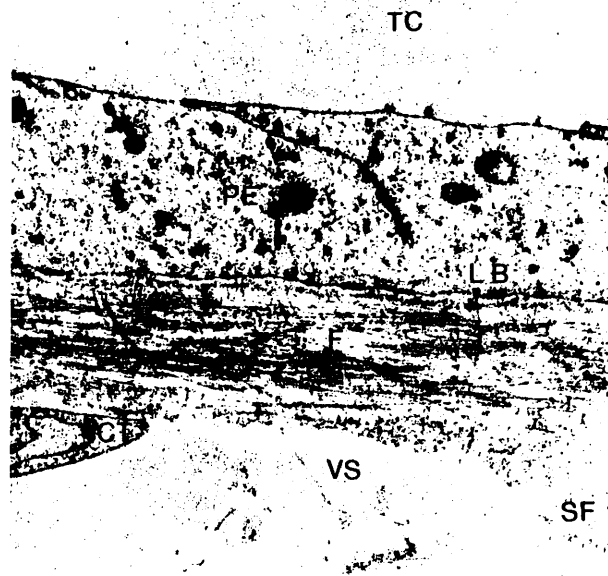


Figura 32

Microfotografía electrónica de la porción filamentososa en la pt. Sección radial a nivel del área correspondiente al vaso espiral (VS) en la spa. Algunos filamentos (F) adquieren una dirección oblicua en esta zona. TC, túnel de Corti; PE, pilar externo; SF, substancia fundamental; CT, células timpánicas; LB, lámina o membrana basal. 22.500 X.

247



Figura 33

Microfotografía electrónica de la porción filamentososa en la pt. Sección radial a la altura del pilar externo (PE) en la spm. La mayor parte de los filamentos (F) discurren radialmente, aunque algunos de ellos ya muestran una cierta oblicuidad. SF, substancia fundamental; LB, lámina o membrana basal. 95.000 X.

268

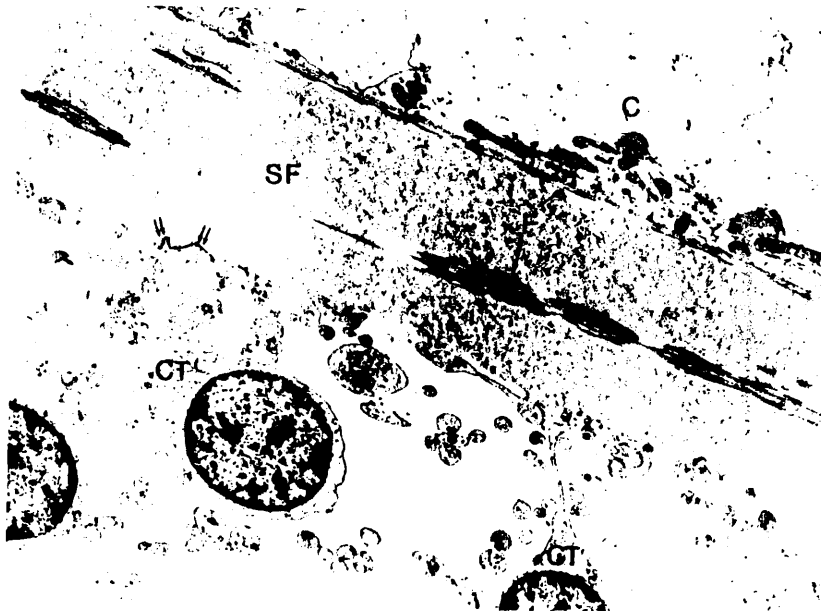


Figura 34

Microfotografía electrónica de la porción filamentosa en la pp. Sección radial a la altura de las células de Claudius (C) en la spm alta. Los filamentos (F) se disponen en dos o más estratos que se alojan en el interior de la substancia fundamental (SF). H, hemidesmosoma; CT, células timpánicas. 6.500 X.

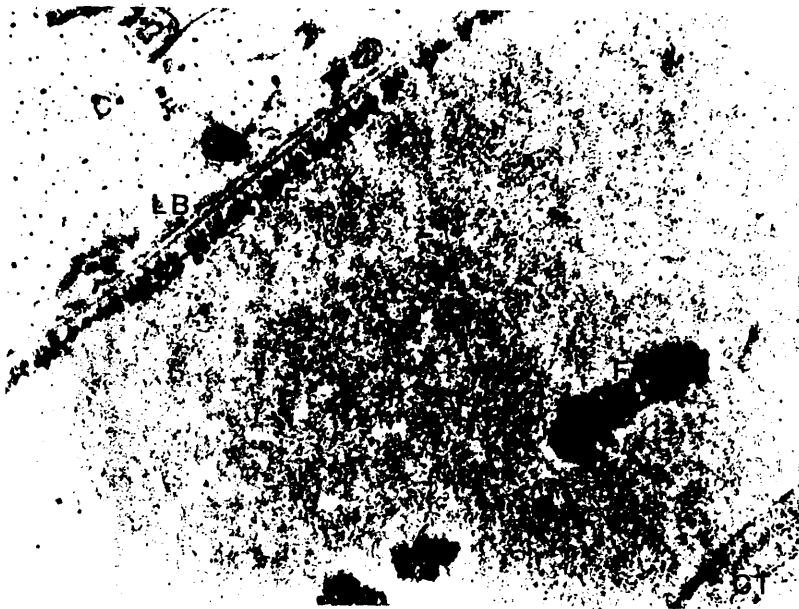


Figura 35

Microfotografía electrónica de la porción filamentosa en la pp. Sección perpendicular a nivel de las células de Claudius (C) en la spa baja. F, filamentos dispuestos en dos estratos con abundante sustancia fundamental (SF) entre ambos. El superior se compone de haces de mediano tamaño muy próximos unos a otros, adquiriendo una apariencia continua en su mayor parte. CT, células timpánicas; LB, lámina o membrana basal. 18.100 X.

250



Figura 36

Microfotografía electrónica de la porción filamentososa en la pp. Sección perpendicular a nivel de las células de Hensen (H) en la spm. F, filamento: en dos estratos, el superior ofrece un aspecto continuo mientras que el inferior se compone de haces voluminosos e independientes separados por substancia fundamental (SF). Entre ambos estratos se visualiza el núcleo de una célula timpánica (CT). LB, lámina o membrana basal. 37.500 X.

251

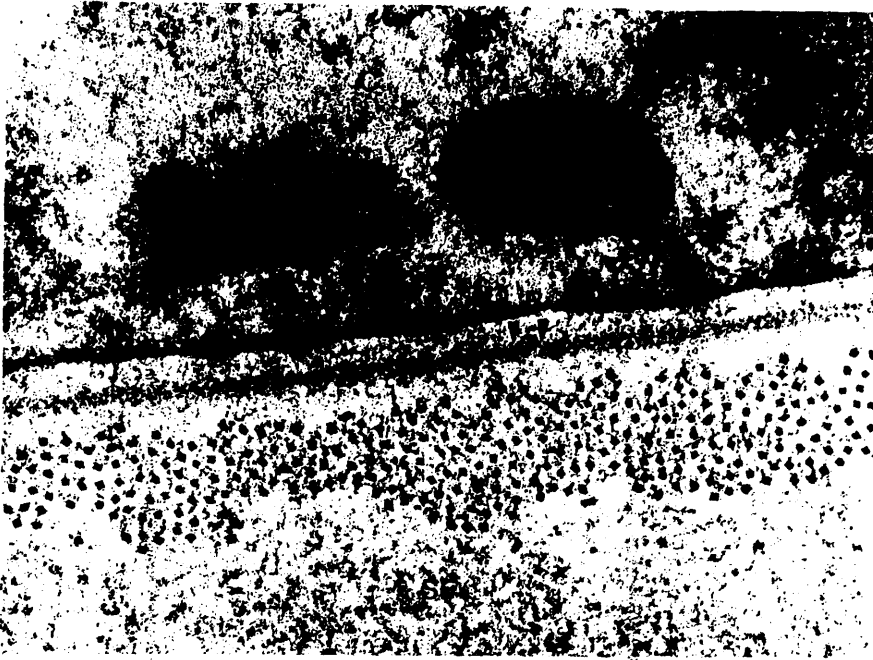


Figura 37

Microfotografía electrónica del estrato superior de la porción filamentosa a mayor aumento. Sección perpendicular a la altura de las células de *Claudius* (C) en la spm. SF, substancia fundamental; LB, lámina o membrana basal. 104.200 X.

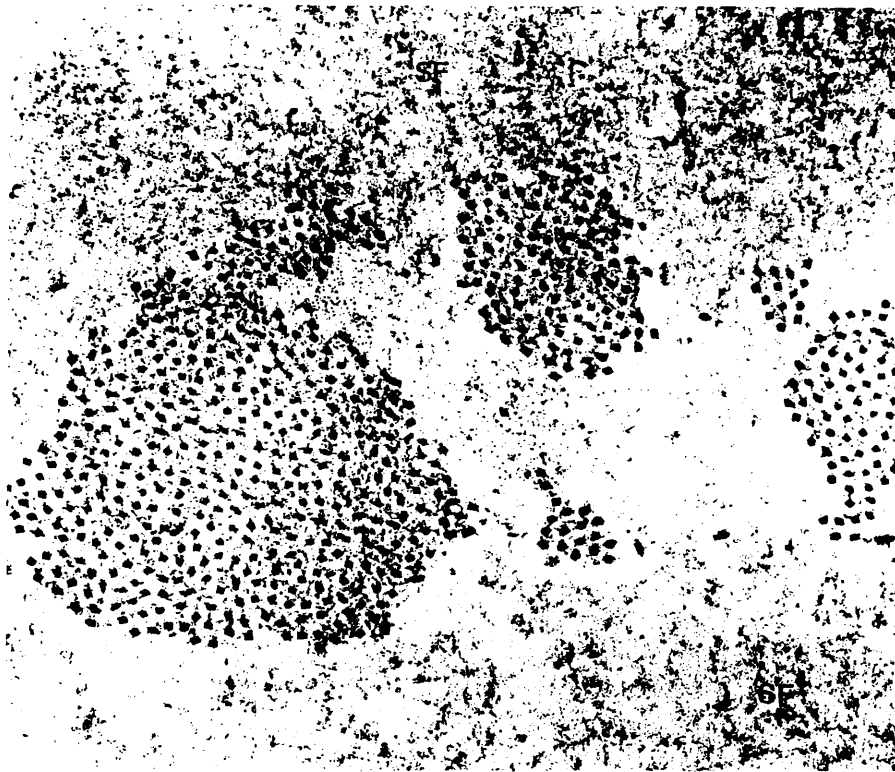


Figura 38

Microfotografía electrónica del estrato inferior de la porción filamentosa a mayor aumento. Sección perpendicular a la altura de las células de Claudius en la spm. Los filamentos se encuentran alojados en el interior de la substancia fundamental (SF) pero además están englobados o envueltos por una substancia homogénea más densa que la anterior. 104.200 X.

253

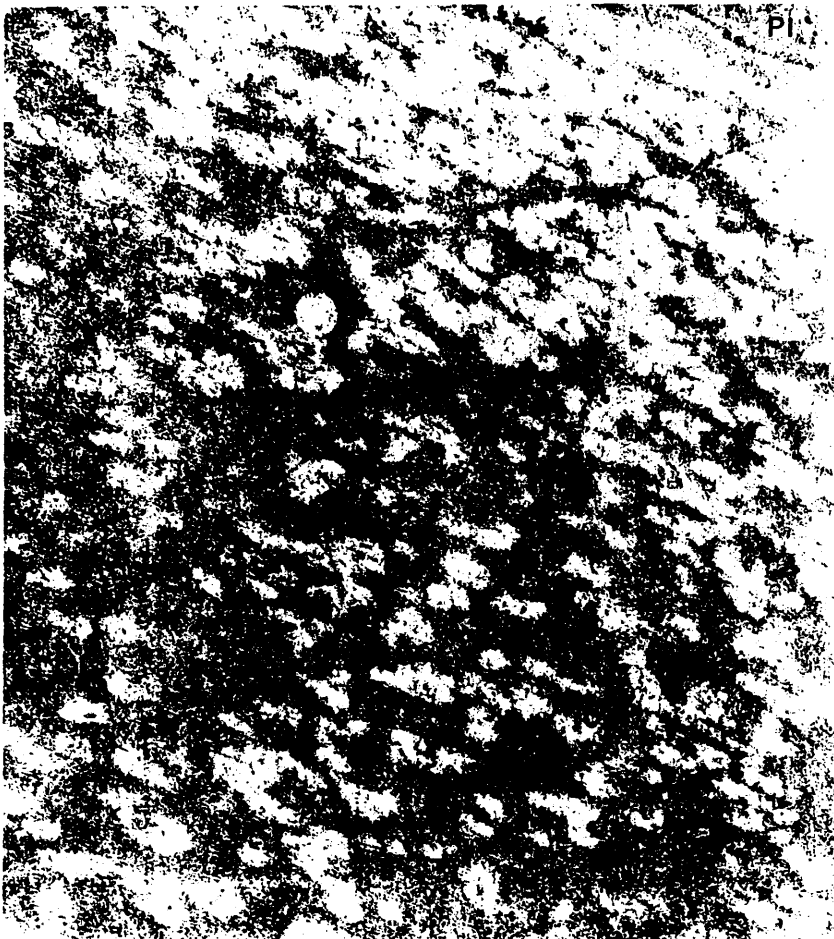


Figura 39

Microfotografía electrónica de la porción filamentososa en la pt. Sección radial a la altura del pilar interno (PI) en la spa. La presencia de unos densos acúmulos de substancia homogénea o fundamental dificulta enormemente la localización de los filamentos. 69,400 X.

254

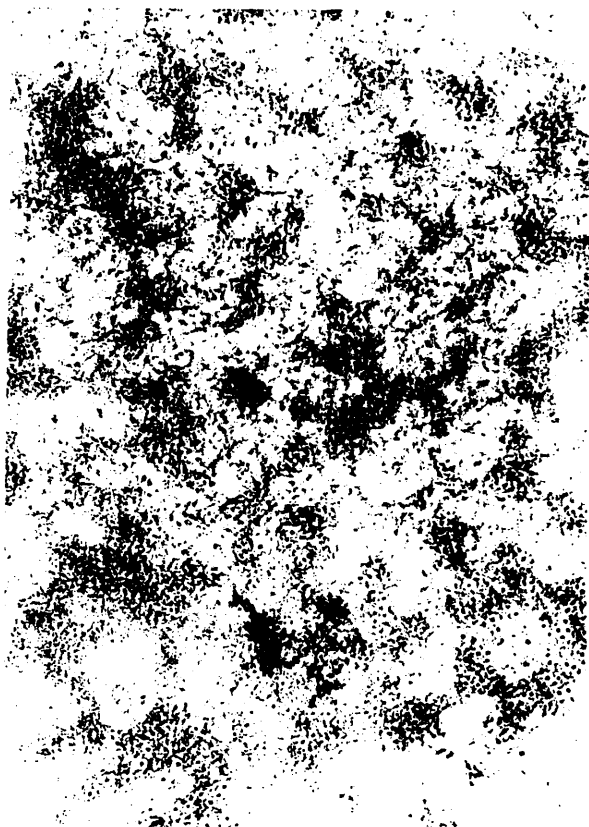


Figura 40

Microfotografía electrónica de la porción filamentosa en la pt. Sección perpendicular a la altura del pilar interno en la spa. Los filamentos además de encontrarse englobados en dichas formaciones densas muestran una gran dispersión e incluso son seccionados en su plano longitudinal. 67.550 X.



Figura 41

Microfotografía electrónica de la porción filamentososa en la pt. Sección radial a nivel de la porción más medial del túnel de Corti en la spa. No todos los filamentos (F) son estrictamente radiales sino que algunos de ellos - adquieren una dirección oblicua. SF, substancia fundamental; CT, células timpánicas; ↑, complejos de unión celular; PI, pilar interno; LB, lámina o membrana basal. 68.500 X.

256



Figura 42

Microfotografía electrónica de la porción filamentososa en la pp. Sección perpendicular a la altura de la segunda célula de Deiters (D) en la spa. Se aprecia la existencia de numerosos haces intermedios entre ambos estratos filamentosos. SF, substancia fundamental; CT, células timpánicas; ↑, complejos de unión celular; RT, rampa timpánica; LB, lámina o membrana basai. 10.000 X.

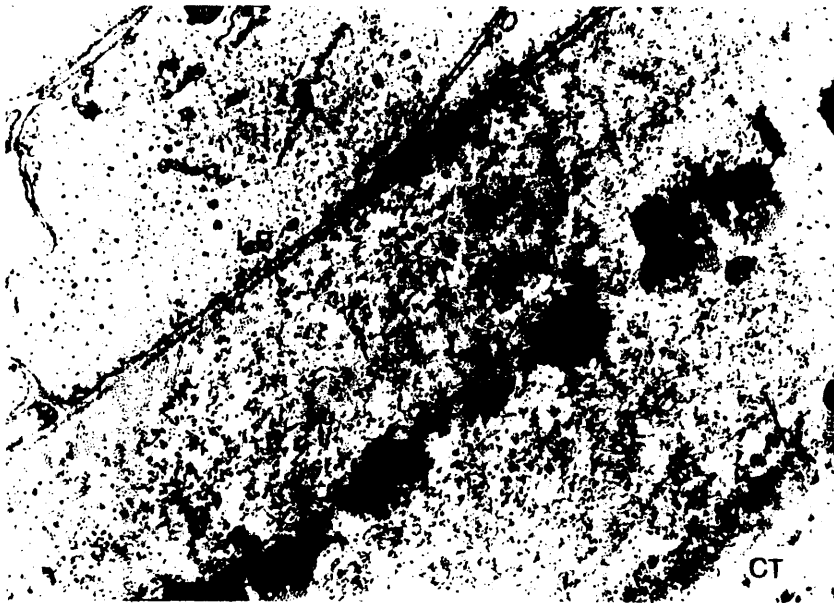


Figura 43

Microfotografía electrónica de la porción filamentososa en la pp. Sección perpendicular a nivel de las células de Hensen (H) en la spa. El estrato superior es cada vez más delgado y presenta soluciones de continuidad entre sus haces, en cambio el estrato inferior es cada vez más voluminoso. Las flechas señalan algunos haces intermedios. SF, substancia fundamental; CT, células timpánicas; LB, lámina o membrana basal. 22.200 X.

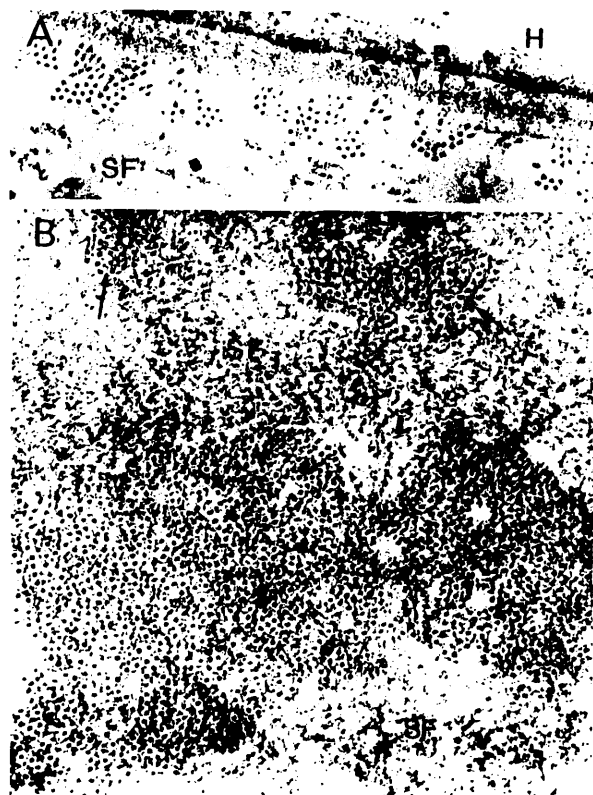


Figura 44

Microfotografía electrónica de la porción filamentosa en la pp. Sección perpendicular a la altura de las células de Hensen (H). SF, substancia fundamental. A) Soluciones de continuidad entre los haces del estrato superior en la spa. LB, lámina o membrana basal. 60.750 X. B) Aumento de tamaño de los haces del estrato inferior. Las flechas señalan algunos haces intermedios. 69.500 X.

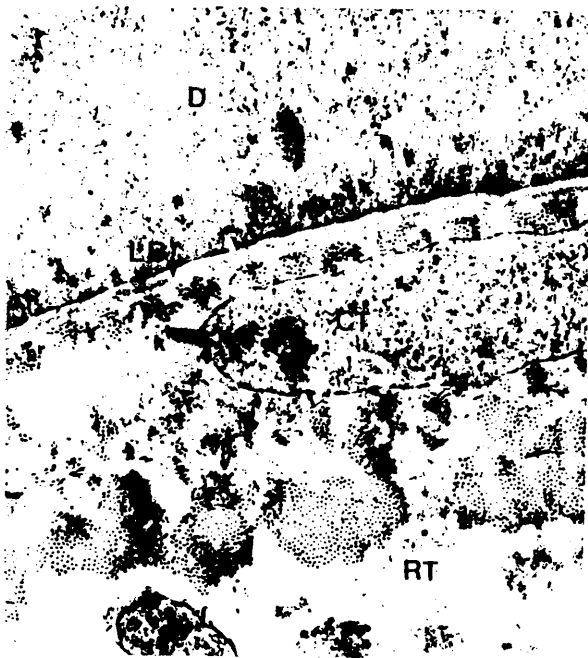


Figura 45

Microfotografía electrónica de la porción filamentososa en la pp. Sección perpendicular a la altura de las células de Deiters (D) en la spm. Numerosos haces intermedios que parecen descender del estrato superior al inferior. CT, células timpánicas; k, kinocilio; RT, rampa timpánica; LB, lámina o membrana basal. 28.600 X.



Figura 46

Microfotografía electrónica de la porción filamentosa en la pp. Sección radial a la altura de las células de Boettcher (B) en la spb. Los filamentos (F) ocupan en su casi totalidad el grosor de la substancia fundamental (SF). 30,000 X.

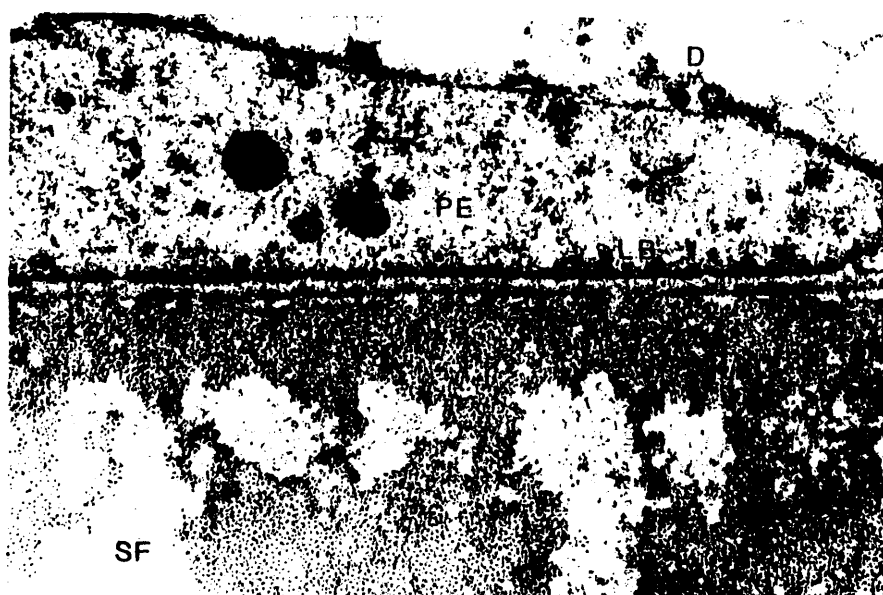


Figura 47

Microfotografía electrónica de la porción filamentososa en la pp. Sección perpendicular a la altura de la primera célula de Deiters (D) y de la porción lateral del pilar externo (PE) en la spm. Los filamentos de ambos estratos se aproximan y establecen su primer contacto, pero aún se pueden diferenciar claramente cada uno de ellos. SF, substancia fundamental; LB, lámina o membrana basal. 37.450 X.

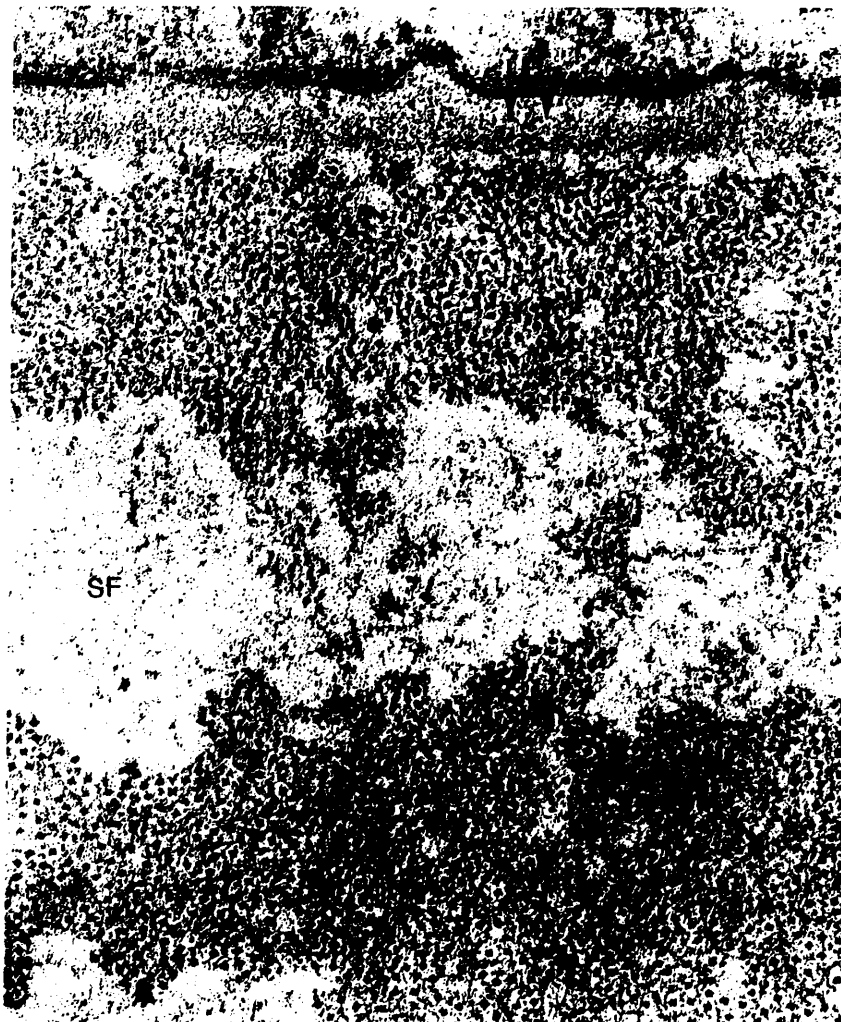


Figura 48

Microfotografía electrónica de la misma zona anterior a mayor aumento. SF, substancia fundamental; LB, lámina o membrana basal. 105.400 X.

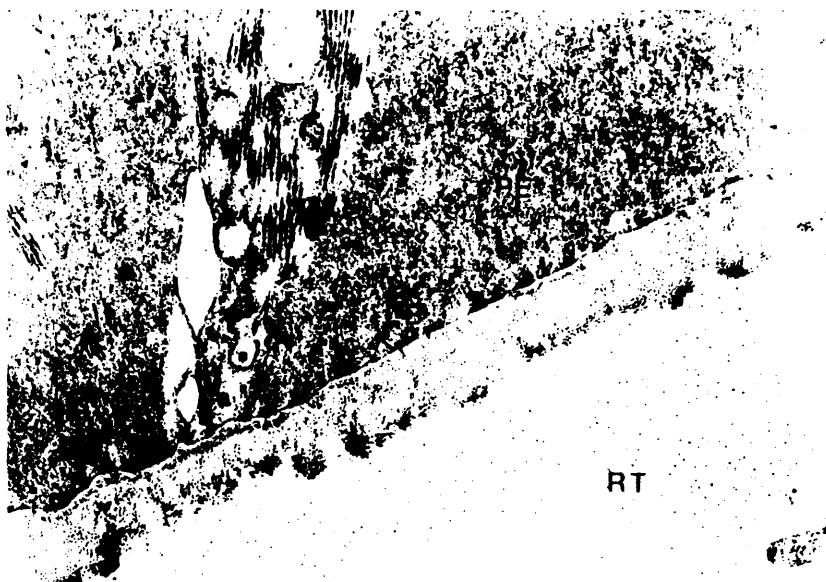


Figura 49

Microfotografía electrónica de la porción filamentosa en la pt. Sección perpendicular a la altura del pilar externo (PE) en la spa. Los filamentos forman una capa única sin el soporte de la substancia fundamental que no existe en esta región coclear. RT, rampa timpánica; LB, lámina o membrana basal. 30,000 X.



Figura 50

Microfotografía electrónica de la porción filamentosa en la pt. Sección radial a nivel del pilar externo (PE) al comienzo de la spa. F, filamentos; CT, célula timpánica con un retículo endoplásmico muy desarrollado (re); v, vesícula de pinocitosis; LB, lámina o membrana basal. No existe sustancia fundamental en esta región del cc. 27.900 X.



Figura 51

Microfotografía electrónica de la porción filamentososa en la pt. Sección radial a nivel del área correspondiente al vaso espiral (VS) en la porción más baja de la spb. F, filamentos; SF, substancia fundamental; CT, células timpánicas; PE, pilar externo; TC, túnel de Corti. 6.300 X.

266



Figura 52

Microfotografía electrónica de la porción filamentososa en la pt. Sección radial de la misma zona anterior. Un grupo de filamentos (F) se desprende de la pt y se introduce en el área del vaso espiral (VS). SF, substancia fundamental; PE, pilar externo. 13.450 X.



Figura 53

Microfotografía electrónica de la porción filamentososa en la pt. Sección perpendicular a nivel del área correspondiente al vaso espiral en la spb alta. Los filamentos (F) adoptan una dirección vertical y se introducen en el interior de la sustancia fundamental (SF). PE, pilar externo; LB, lámina o membrana basal. 37.500 X.

268



Figura 54

Microfotografía electrónica de la misma zona anterior a mayor aumento.
103.250 X.

261



Figura 55

Microfotografía electrónica de la porción filamentosa en la pp. Sección radial a nivel de las células de Boettcher (B) en la spb baja. Los filamentos (F) prácticamente ocupan todo el grosor de la mb; CT, célula timpánica; LB, lámina o membrana basal. 11.500 X.

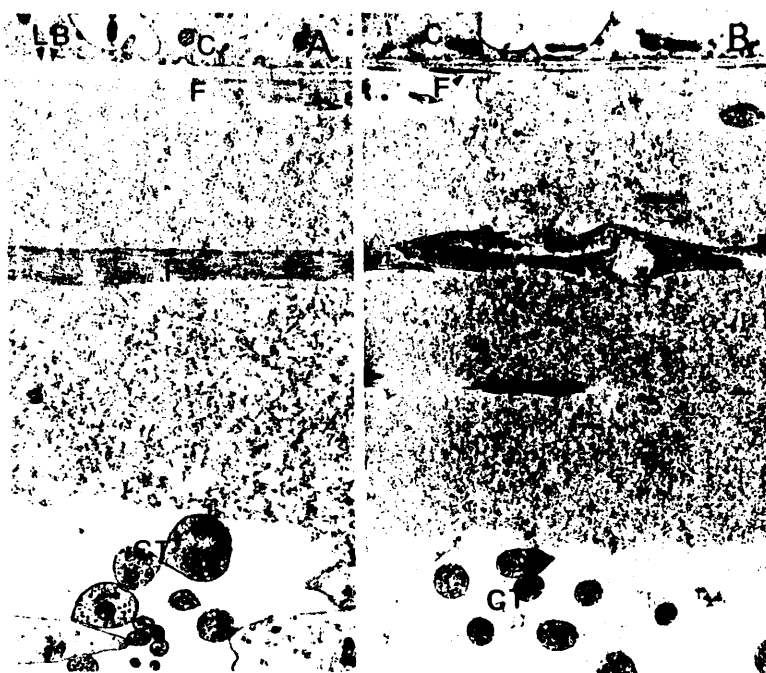


Figura 56

Microfotografía electrónica de la porción filamentosa en la pp. Sección radial a nivel de las células de Claudius (C). LB, lámina o membrana basal; CT, células timpánicas. A) En la spm, los filamentos (F) forman dos estratos continuos. 8. 500 X. B) En la spa, las capas de filamentos son delgadas y discontinuas. 9. 400 X.

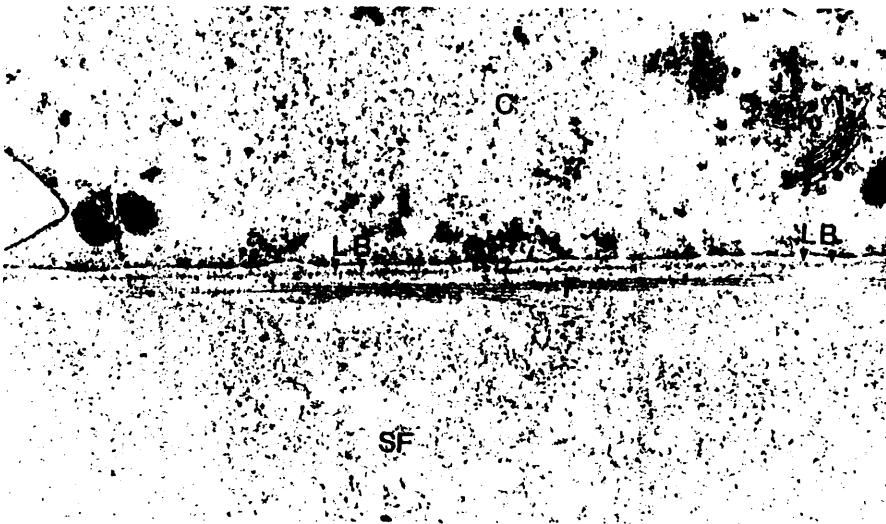


Figura 57

Microfotografía electrónica de la lámina o membrana basal. Sección radial - a nivel de las células de Claudius (C) en la región apical. Las flechas muestran la lámina o membrana basal (LB). SF, sustancia fundamental; F, filamentos. 19.000 X.

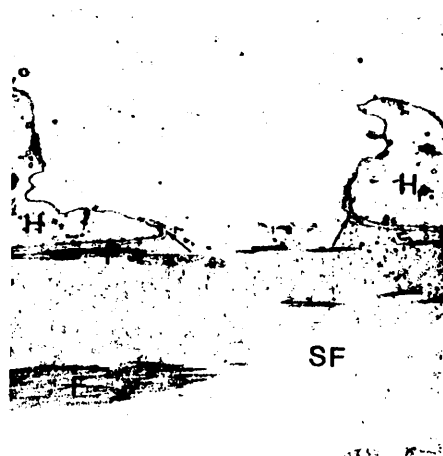


Figura 58

Microfotografía electrónica de la lámina o membrana basal. Sección radial a nivel de las células de Hensen (H) en la spa. En todas las cócleas examinadas se descubrió la discontinuidad de la lámina o membrana basal (↑) - en este área a partir de los 18 mm de distancia de la vr. F, filamentos; - SF, substancia fundamental. 7.600 X.



Figura 59

Microfotografías electrónicas de la lámina o membrana basal. Sección perpendicular a nivel de las células de Hensen (H) en la spa: Diferente tamaño de sus soluciones de continuidad (↑). SF, sustancia fundamental; F, filamentos; CT, célula timpánica. A) 40.000 X y B) 38.500 X.



Figura 60

Microfotografía electrónica de la mb. Sección perpendicular a nivel de las células de Hensen (H) en la spa. A) ↑, soluciones de continuidad de la lámina o membrana basal; F, haces filamentosos poco numerosos y discontinuos; SF, substancia fundamental con un grosor pequeño; CT, células timpánicas con espacios libres entre ellas. 7.000 X. B) Solución de continuidad de la lámina o membrana basal a mayor aumento. 13.700 X.

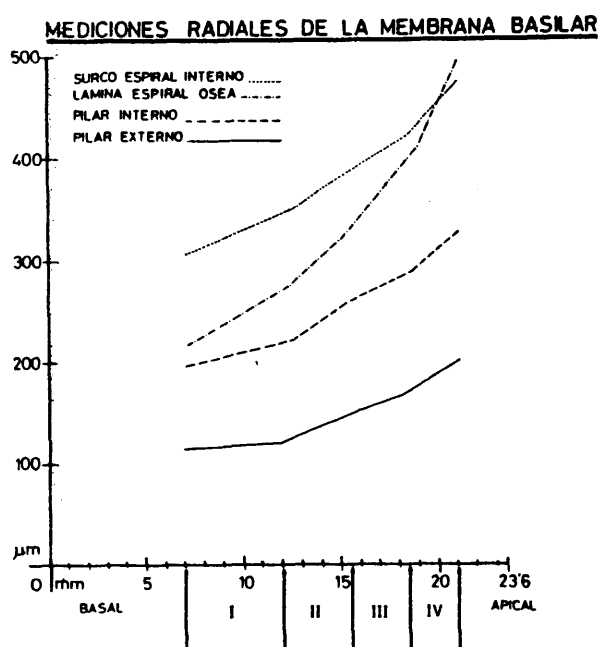


Figura 61

Representación gráfica de las variaciones que experimenta la anchura media de los distintos parámetros radiales de la mb, determinados con el método - de microscopía óptica, entre los 7 y 21 mm del cc. En el eje de ordenadas se expresa la anchura en μm y en el de abscisas, la distancia a la vr en mm. Sobre este último se indica la distribución espacial de los cuatro segmentos que se obtuvieron al hallar la curva de regresión lineal para cada dos posiciones consecutivas de medida.

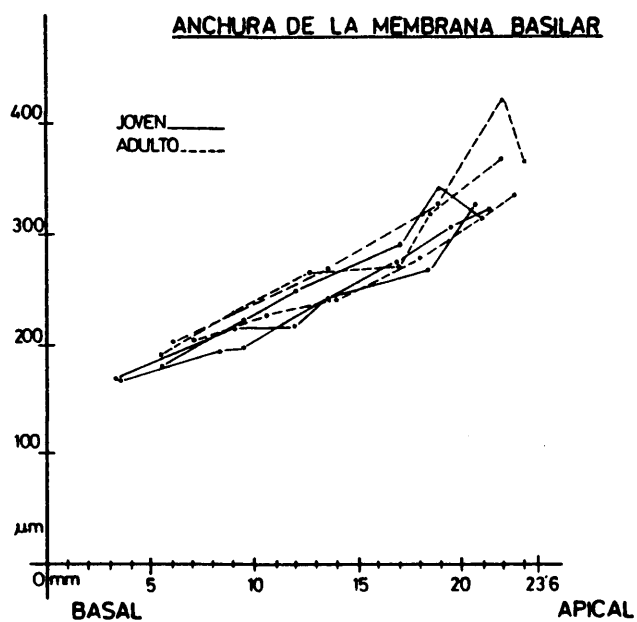


Figura 62

Las gráficas representan las variaciones de la anchura de la mb a lo largo del cc en cada uno de los seis animales examinados con microscopía electrónica de transmisión. El eje de ordenadas indica su medida radial en μm y el de abscisas señala la distancia a la vr en mm.

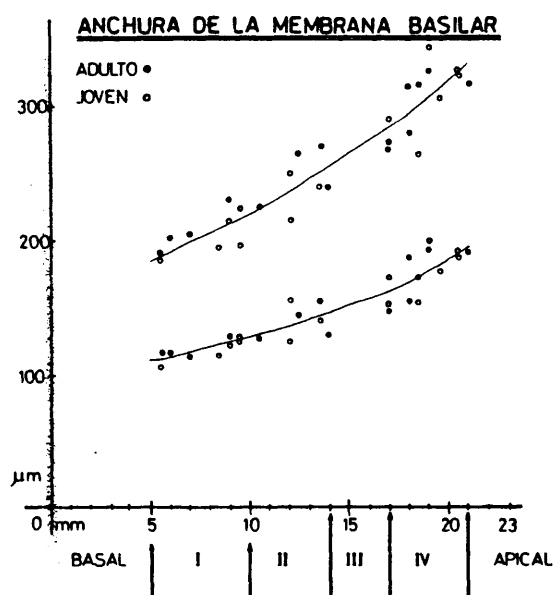


Figura 63

Variaciones de la anchura media de la mb (trazado superior) y de la pp (trazado inferior), entre los 5 y 21 mm del cc, en las determinaciones efectuadas con el método de microscopía electrónica de transmisión. En el eje de ordenadas se representa la anchura en μm y en el de abscisas, la distancia a la vr en mm. Los cuatro segmentos que aparecen en la parte inferior son similares a los descritos en la Fíg. 61.

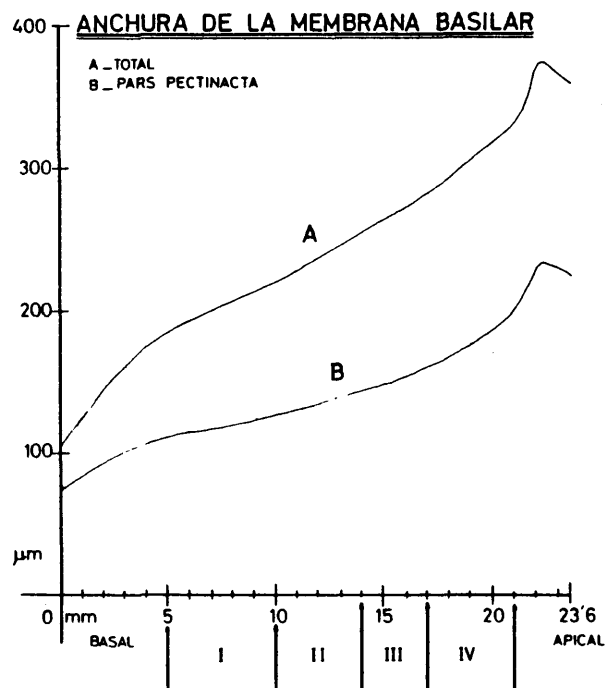


Figura 64

Variaciones que presenta la anchura media de la mb y la de la pp, a lo largo del cc, en las determinaciones realizadas con el método de microscopía electrónica de transmisión. En el eje de ordenadas se expresa la anchura en μm y en el de abscisas, la distancia a la vr en mm. Los cuatro segmentos de la parte inferior corresponden a los descritos en la Fig. 61.

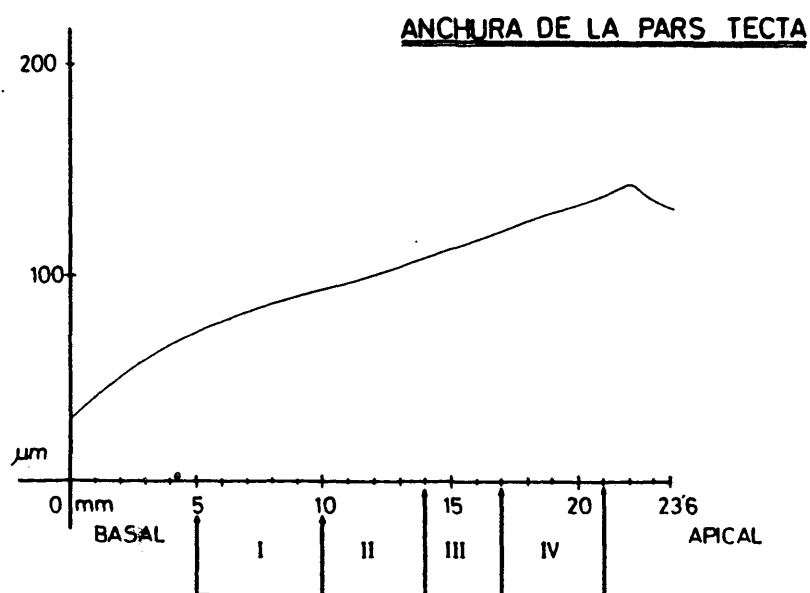


Figura 65

Modificaciones de la anchura media de la pt a lo largo del cc en las determinaciones efectuadas con el método de microscopía electrónica de transmisión. El eje de ordenadas representa la anchura en μm y el de abscisas, la distancia a la vr en mm. Los cuatro segmentos de la parte inferior son similares a los descritos en la Fig. 61.

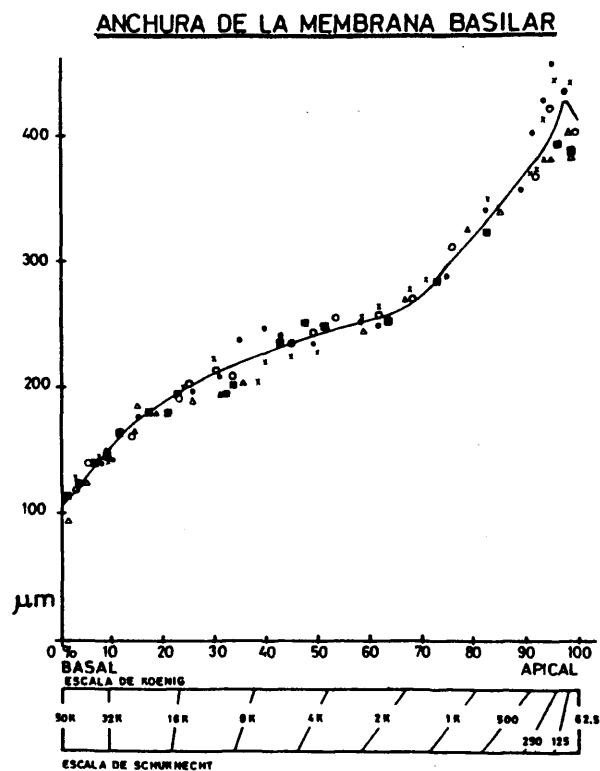


Figura 66

Variaciones que experimenta la anchura media de la mb a lo largo del cc en las determinaciones realizadas con el método de microscopía de contraste - de fase. El eje de ordenadas representa la anchura en μm y el de abscisas, la longitud de la cóclea en %. En la parte inferior y en relación con este - último eje, aparece un esquema de las escalas de frecuencia descritas por Koenig y Schuknecht para el gato.

VARIACIONES EN LA ANCHURA DE LA MEMBRANA BASILAR
AL INTRODUCIR EL FACTOR DE CORRECCION.

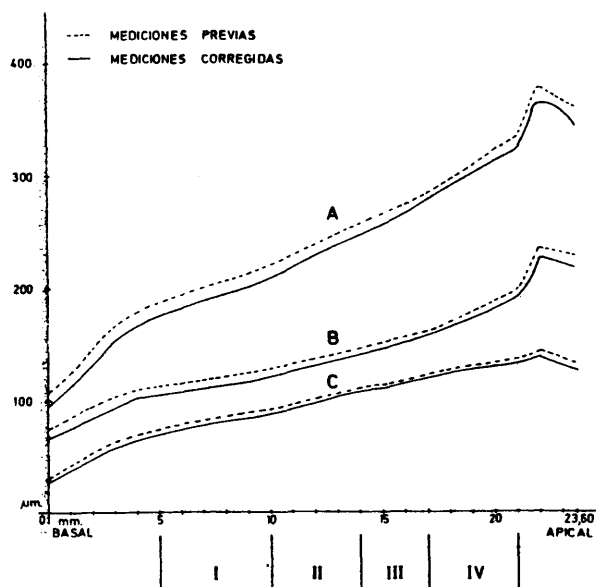


Figura 67

Modificaciones que se producen en las medidas radiales de la mb, obtenidas con el método de microscopía electrónica de transmisión, al introducir el factor de corrección. La curva A corresponde a la anchura media de la mb, la B a la de la pp y la C a la de la pt. En el eje de ordenadas se expresa la anchura en μm y en el de abscisas, la distancia a la vr en mm. Los cuatro segmentos de la parte inferior son similares a los descritos en la Fig. 61.

ANCHURA DE LA MEMBRANA BASILAR SEGUN EL
METODO EMPLEADO PARA SU DETERMINACION.

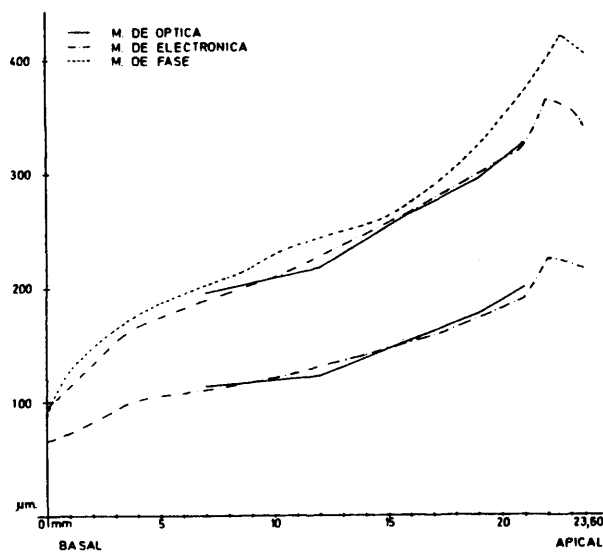


Figura 68

Variaciones que experimenta la anchura de la mb (curvas superiores) y la de la pp (curvas inferiores) a lo largo del cc en función del método empleado para su determinación. En el eje de ordenadas se expresa la anchura en μm y en el de abscisas, la distancia a la vr en mm.

CAMBIOS DE LA MEMBRANA BASILAR
EN LA COCLEA

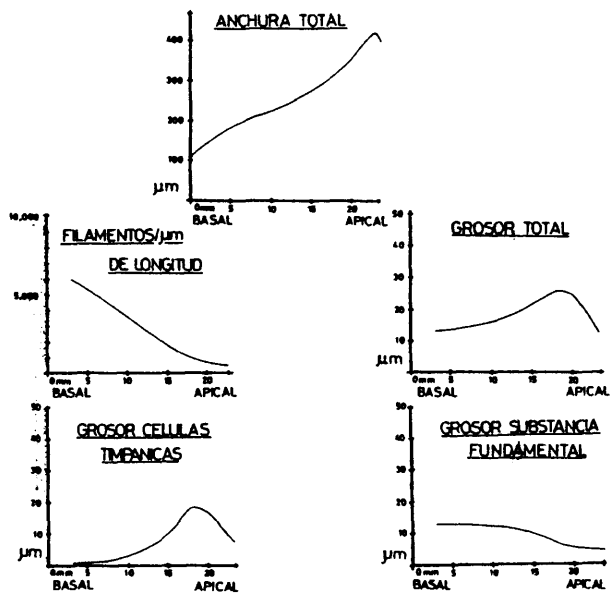


Figura 69

Diagrama compuesto que muestra los cambios presentados por la mb y por los distintos elementos de la misma en función de su localización coclear. - Todas las representaciones gráficas relacionadas con el grosor corresponden a las determinaciones efectuadas a nivel de la pp.

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ANCHURA
DE LA MEMBRANA BASILAR

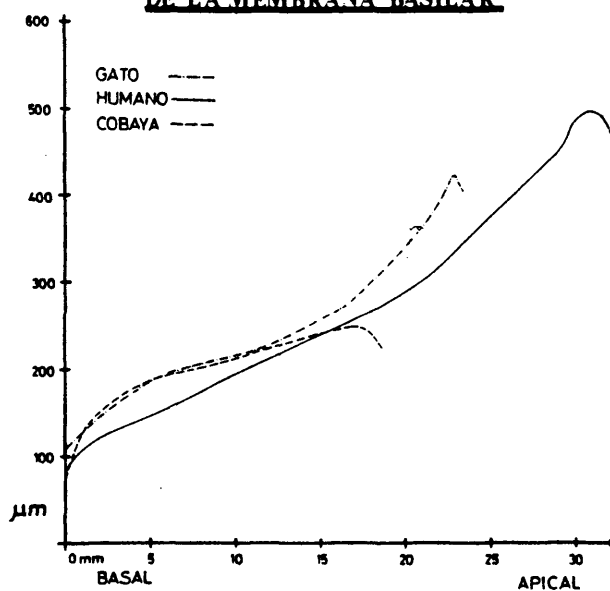


Figura 70

Representación gráfica de las variaciones que experimenta la anchura media de la mb en tres especies diferentes de mamíferos. El eje de ordenadas expresa la anchura en μm y el de abscisas, la distancia a la vr en mm. Los datos correspondientes al humano proceden de Wever (215, 216) y los del cobaya se tomaron de Fernandez (61).

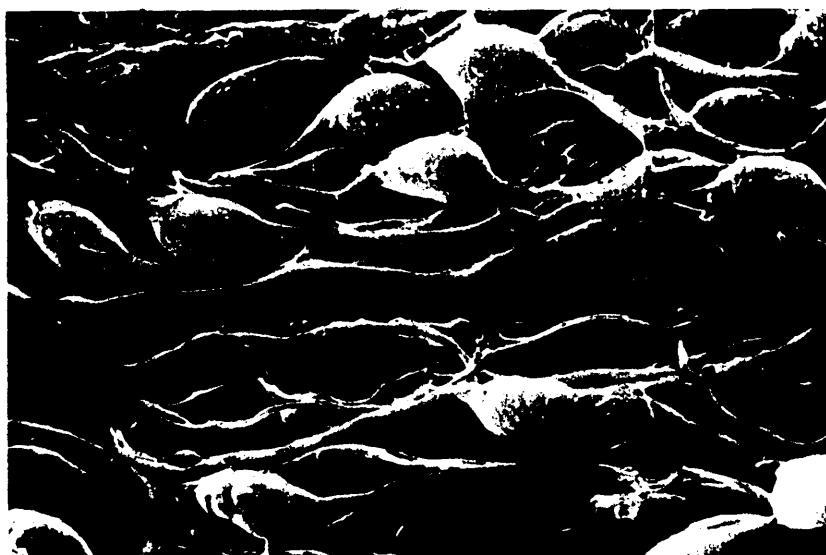


Figura 71

Microfotografía electrónica de barrido de las células timpánicas en la spm del cobaya, tomada de Angelborg y Engström (6). En ella se aprecia la bifurcación o ramificación de las prolongaciones de dichos elementos celulares a lo largo de su recorrido.

